

Série A, N° 792

N° d'Ordre

. 818 .

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Odette WARTELLE

1^{re} THÈSE

Les facteurs prothromboplastiques du sang de poule
et de quelques mammifères

Application à la détermination
de l'hémophilie B chez l'homme

2^o THÈSE - Propositions données par la Faculté.

Progrès récents dans le fractionnement
des protéines plasmatiques et sériques

Soutenues le 57 juin 1958 devant la Commission d'examen

MM. R. WURMSER *Président.*

LENORMANT }
Mlle E. LE BRETON } *Examineurs.*

Série A, N° 792

N° d'Ordre

- 818 -

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Odette WARTELLE

1^{re} THÈSE

Les facteurs prothromboplastiques du sang de poule
et de quelques mammifères

Application à la détermination
de l'hémophilie B chez l'homme

2^e THÈSE - Propositions données par la Faculté.

Progrès récents dans le fractionnement
des protéines plasmatiques et sériques

Soutenues le

devant la Commission d'examen

MM. R. WURMSER *Président.*

LENORMANT

Mlle E. LE BRETON } *Examineurs.*





Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen J. PERES
 G. JULIA (T), Anal. sup. et Algèbre sup.
 FOCH (T), Méc. phys. et expérimentale.
 PAUTHENIER (T), Electrotechnie générale.
 DE BROGLIE (T), Théories physiques.
 PRENANT (T), Anatomie et Histologie comparées.
 GARNIER (T), Géométrie supérieure.
 PERES (T), Mécanique des fluides et applications.
 LAUGIER (T), Physiologie générale.
 M. CURIE (T), Physique (P.C.B.).
 BARRABE (T), Géologie struct. et Géologie appliquée.
 G. DARMOIS (T), Calcul des prob. et Phys. math.
 J. BOURCART (T), Géogr. physique et Géologie dynam.
 PLANTEFOL (T), Botanique.
 GRASSE (T), Evolution des êtres organisés.
 PREVOST (T), Chimie organique.
 BOULIGAND (T), Applications de l'analyse à la Géom.
 CHAUDRON (T), Chimie appliquée.
 WYART (T), Minéralogie.
 TEISSIER (T), Zoologie.
 MANGENOT (T), Biologie végétale.
 F. AUGER (T), Physique quantique et Relat.
 MCNNIER (T), Physiologie des fonctions.
 PIVETEAU (T), Géologie.
 ROCARD (T), Physique (E.N.S.).
 H. CARTAN (T), Mathématiques (E.N.S.).
 LAFFITTE (T), Chimie générale.
 FAVARD (T), Mécanique générale.
 COULOMB (T), Physique du Globe.
 M^{lle} COUSIN (T), Biologie animale (P.C.B.).
 CHRETIEN (T), Chimie minérale.
 P. DRACH (T), Zoologie.
 KASTLER (T), Physique.
 EPHRUSSI (T), Génétique.
 WURMSER (T), Biologie physico-chimique.
 RIVIERE (T), Géologie (S.P.C.N.).
 GAUTHERET (T), Biologie végétale (P.C.B.).
 LUCAS (T), Recherches physiques.
 A. THOMAS (T), Biologie cellulaire.
 ARNULF (T), Optique appliquée.
 M. MORAND (T), Physique.
 SOLEILLET (T), Physique.
 FORTIER (T), Méc. expér. des fluides.
 DANJON (T), Astronomie.
 LAPORTE (T), Phys. générale et radioactivité.
 JANET (T), Méc. anal. et Méc. céleste.
 FETIT (T), Biologie maritime.
 QUENEY (T), Météor. et dyn. atmosphér.
 GALLIEN (T), Embryologie.
 EICHHORN (T), Biologie végétale (P.C.B.).
 DE CUGNAC, Biologie végétale (P.C.B.).
 M^{lle} CAUCHOIS (T), Chimie physique.
 THELLIER (T), Physique du Globe.
 L'HERITIER (T), Génétique.
 GRIVET (T), Radio-électricité.
 PONCIN (T), Mécanique des fluides.
 DUBREIL (T), Arithmétique et théorie des nombres.
 QUELET (T), Chimie organique.
 CAGNIARD (T), Géophysique appliquée.
 CHAMPETIER (T), Chimie macromoléculaire.
 CUVILLIER (T), Géologie struct. et Géologie appliquée.

JUNG (T), Pétrographie.
 TRILLAT (T), Microscopie et diffraction électronique
 WIEMANN (T), Chimie organique structurale.
 JACQUINOT (T), Spectroscopie et Physiologie céleste.
 VASSY (T), Physique de l'atmosphère.
 DESTOUCHES, Théories physiques.
 M. PROVOST (T), Géologie.
 AMIEL (T), Chimie (P.C.B.).
 HOCART (T), Minéralogie.
 J.-P. MATHIEU (T), Physique (P.C.B.).
 COUTEAUX (T), Biologie animale (P.C.B.).
 MAY (T), Biologie animale (P.C.B.).
 CHCQUET (T), Calcul diff. et intégral.
 FELDMANN, Biologie (P.C.B.).
 GUINIER (T), Physique (P.C.B.).
 JOST (T), Biologie (P.C.B.).
 FORTET (T), Calcul des probabilités.
 SCHWARTZ (T), Méthode mathématique de la phys.
 CHOUARD (T), Physiologie végétale.
 MALAVARD (T), Aviation.
 BRELOT (T), Calcul différentiel.
 NORMANT (T), Chimie (P.C.B.).
 EENARD (T), Chimie (P.C.B.).
 BUVAT (T), Botanique (E.N.S.).
 DUGUE (T), Statistiques mathématiques.
 GELOSO, Chimie (S.P.C.N.).
 SOULAIRAC (T), Psychophysiologie.
 ULRICH (T), Physiologie végétale.
 MARECHAL (T), Optique théorique et appliquée.
 KIRRMANN (T), Théories chimiques.
 CHADEFAUD, Botanique.
 DESTRIAU (T), Physique (M.P.C.).
 M^{lle} LE BRETON, Physiologie générale.
 SALEM (T), Mathématiques générales.
 LELONG (T), Mathématiques générales.
 DEVILLERS, Anatomie et Histologie comparées.
 EHRESMANN (T), Topologie algébrique.
 FRANÇON, Physique (M.P.C.).
 GLANGEAUD (T), Géographie physique et Géologie dyn.
 GODEMENT (T), Mathématiques (M.P.C.).
 FISOT (T), Calcul des probabilités.
 E. ROCH, Géologie.
 SCHATZMANN, Astrophysique.
 TERMIER (T), Paléontologie stratigraphique.
 ZAMANSKY (T), Mathématiques générales.
 JOLIOT (T), Physique nucléaire et Radioactivité.
 LENNUIER, Physique (P.C.B.).
 RIZET, Génétique.
 M^{me} TONNELAT, Théories physiques.
 DIXMIER, Mathématiques (M.P.C.).
 SOUCHAY, Chimie (P.C.B.).
 AIGRAIN, Physique (P.C.B.).
 BRUSSET, Chimie (P.C.B.).
 M. LEVY, Physique théorique.
 LENORMANT, Physiologie.
 M^{me} CHAIX, Chimie biologique.
 M^{me} HUREL-PY, Biologie végétale (P.C.B.).
 PIAUX, Chimie végétale (P.C.B.).
 BRUN, Mécanique expérimentale des fluides.
 LEDERER, Chimie biologique.
 M^{me} DUBREIL-JACOTIN, Mathématiques.
 M^{me} LELONG-FERRAND, Mathématiques (E.N.S.).
 BELLAIR, Géologie (S.P.C.N.).
 COTTE (T), Physique (M.P.C.).
 J. DUBOIS, Chimie.
 LAMOTTE, Zoologie.
 LE ROLLAND, Mécanique des fluides.
 MICHEL, Chimie (P.C.B.).
 OLMER (T), Chimie énergétique générale.
 Le Secrétaire Général C. MONIER

INTRODUCTION

La coagulation est la prise en masse du sang par transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble.

Les premières conceptions véritablement scientifiques concernant le mécanisme de la coagulation remontent à 1895 avec les travaux d'Alexander-Schmidt, et à 1905 avec ceux de Morawitz : la prothrombine qui se trouve dans le plasma sous une forme inactive est transformée en thrombine grâce à l'action de la thromboplastine et du calcium ionisé. La thrombine ainsi formée transforme le fibrinogène en fibrine.

Ce schéma de base reste toujours valable, mais il s'est notablement compliqué car il est apparu que ni la « prothrombine », ni la « thromboplastine » n'étaient simples.

On sait actuellement qu'à côté de la prothrombine vraie interviennent des facteurs accélérateurs ou activateurs. D'autre part, la thromboplastine se forme dans le sang grâce à l'interaction de nombreuses substances plasmatiques et plaquettaires.

Le mécanisme de la coagulation et l'étude des facteurs qui y participent ont fait l'objet de très nombreux travaux depuis une quinzaine d'années.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier la coagulation de différentes espèces animales comparativement à celle de l'homme. Mais le problème aurait été trop vaste, et nous nous sommes bornés à étudier la « thromboplastino-formation » en faisant appel à des techniques modernes beaucoup plus précises et plus spécifiques que celles antérieurement utilisées.

Cette étude a été faite dans le laboratoire de coagulation du Centre National de Transfusion Sanguine (Docteur J.-P. Soulier).

1° DEFINITION DE LA THROMBOPLASTINO-FORMATION

Notion de thromboplastine

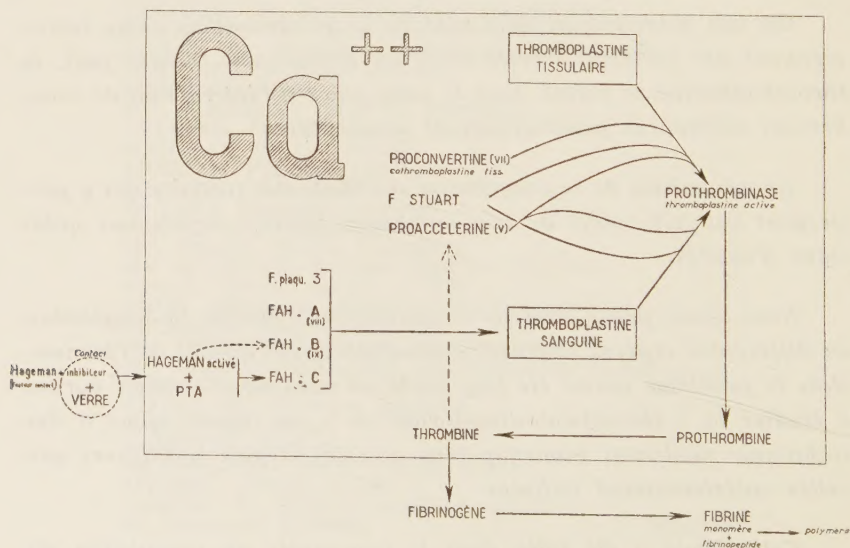
Différents auteurs (Morawitz, Schmidt, Mellamby), au début de ce siècle, ont appelé « thromboplastine » toute substance susceptible de transformer la prothrombine en thrombine. Depuis cette époque, le terme a subi de nombreuses modifications et, actuellement, on entend sous le nom de « **thromboplastine active** » ou « **prothrombinase** » le produit final résultant de l'interaction de différents facteurs plasmatiques et plaquettaires capables de transformer la prothrombine en thrombine (en présence de calcium), alors que sous le nom de « **thromboplastine tissulaire** », on considère une thromboplastine incomplète, incapable à elle seule (en présence de calcium) de transformer la prothrombine en thrombine. La proconvertine, le facteur Stuart et la proaccéléérine sont, en effet, nécessaires au développement de son action.

2° MECANISME DE LA THROMBOPLASTINO-FORMATION

La formation endogène de thromboplastine constitue le premier stade de la coagulation : c'est le principal, tant par le nombre de facteurs qui y participent que par les troubles importants que l'on constate lorsqu'un seul de ces facteurs fait défaut chez l'homme.

La thromboplastino-formation est la phase la plus longue de la coagulation. Chez l'homme, la formation de la thromboplastine endogène se fait en six à huit minutes, ce qui représente 90 % environ de la durée totale de la coagulation, et la formation du produit intermédiaire demande la presque totalité de cette période; la formation de la thromboplastine active (deuxième partie de la réaction) se fait en une dizaine de secondes.

Dans l'état actuel de nos connaissances, nous pouvons schématiser ce premier temps de la coagulation *in vitro* de la façon suivante (schéma I) :



SCHEMA I. — Schéma de la coagulation.

a) **Formation du produit intermédiaire** (thromboplastine sanguine incomplète inactive). Selon J.-P. Soulier, le facteur Hageman, qui est le facteur contact, est activé par le verre ; celui-ci adsorberait un inhibiteur. Le facteur Hageman activé forme avec le P.T.A., en présence de calcium ionisé, un troisième facteur prothromboplastique appelé facteur prothromboplastique C. Ce facteur C agit ensuite avec les facteurs prothromboplastiques A et B (facteurs antihémophiliques A et B) et au moins un facteur plaquettaire (facteur 3) pour donner une thromboplastine inactive (le facteur Hageman activé étant indispensable à l'activation du facteur antihémophile B).

b) **Le produit intermédiaire réagit avec deux des éléments du « complexe prothrombique »** : facteur Stuart et proaccéléline, pour donner de la thromboplastine endogène active (prothrombinase).

Le produit intermédiaire est très proche d'une thromboplastine tissulaire ; la seule différence est que la proconvertine n'est pas ici nécessaire à la formation de thromboplastine endogène active.

Voici, résumés en un tableau, les termes couramment employés pour désigner un même facteur :

Facteur prothrombo-plastique A (F.P.A.)	Facteur prothrombo-plastique B (F.P.B.)	Facteur prothrombo-plastique C (F.P.C.) (Complexe de facteur Hageman activé + P.T.A.)
Antihémophilic globulin (A.H.G.) de Patek et Taylor (1937)	Christmas factor de Biggs et collaborateurs (1952)	Hageman factor (Ratnoff, 1956)
Thromboplastinogen de Quick	Plasma thromboplastin component (Aggeler, 1952), (P.T.C.)	P.T.A. } Plasma thromboplastin antécédent (P.T.A.) (Rosenthal et Dreskin, 1953) Plasma thromboplastic factor C (Aggeler et Spaet, 1953)
Facteur VIII de Koller	Facteur IX de Koller	
Facteur antihémophilique A (Soulier et Larrieu)	Facteur antihémophilique B (Soulier et Larrieu, 1953)	

Facteur Stuart	Proconvertine inactive (Owren, 1951)	Proaccéléline
Stuart factor (Hougie, Barrow et Graham, 1956)	Facteur VII (Koller, 1951)	Factor V (Owren, 1944)
Facteur du Prower defect ⁽¹⁾ (Telfer et collabor., 1956)	Stable factor (Stefanini, 1951)	Labile factor (Quick)
Facteur X de Koller ⁽²⁾	Serum prothrombin converting accelerator (S. P. C. A.) (Alexandér)	Plasma accelerator globulin (Ware, Seegers)
	Co-thromboplastin (Mann, Hurn)	

⁽¹⁾ Le facteur Prower est identique au facteur Stuart, bien que dans la publication originale, le temps de stypven ait été trouvé normal.

⁽²⁾ L'identité entre facteur Stuart et facteur X est avancée par Koller.

PROPRIETES	F.P.A.	F.P.B.	Complexe F.P.C. (Hageman P.T.A.)	Facteur Stuart	Proconver- tine (1)	Proacé- lérine
Présence dans le plasma	+	+	+	+	+	+
Présence dans le sérum	—	+	+	+	+	—
Adsorption par SO_4Ba , $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}$, $\text{Al}(\text{OH})_3$	—	+	—	+	+	—
Filtration à travers filtres Seitz à 20% d'amiante	—	+	±	+	+	—
Thermolabilité à 56°	+	+	+	+	±	+
<i>Conformation</i> Thermolabilité à 56°	±	+	+	±	+	—
Précipitation par $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ à saturation	25 %	45-50 %	25-33 %	40-50 %	40-50 %	33-40 %
Fractionnement de Cohn	Fr. I et III ₂ (8% d'alcool à pH 7,4)	Fract. III et surtout IV ₁	Fract. IV ₁	?	?	Fr. II et III
Synthèse au niveau du foie	?	+	?	+	+	+

PROPRIETES DES FACTEURS PROTHROMBOPLASTIQUES HUMAINS

(1) Bien que la proconvertine n'intervienne pas dans la formation de la prothrombinase, nous l'incorporons dans ce tableau, car elle est indispensable au développement de l'action des thromboplastines tissulaires.

PLAN DE TRAVAIL

ETAT ACTUEL DE NOS CONNAISSANCES CONCERNANT LES FACTEURS DE COAGULATION DANS DIFFERENTES ESPECES ANIMALES

Mammifères.

Chez le lapin : il est bien connu que la coagulation chez cet animal est très rapide, et Quick et Stefanini (12) ont montré que le taux de proaccélélerine du plasma de lapin était beaucoup plus élevé que celui du plasma humain.

Chez le bœuf : nous savons déjà que le plasma est très riche en proaccélélerine, et R.M. Biggs, R.G. Macfarlane et E. Bidwell (8) (3), en préparant de la fraction I de Cohn à partir de différentes espèces animales, ont constaté que le plasma de bœuf était plus riche en fibrinogène et en facteur prothromboplastique A que le plasma humain.

Chez le mouton : la coagulation n'a jamais fait l'objet d'aucun travail, mais E. Bidwell (4) a signalé que le plasma de mouton était plus riche en facteur prothromboplastique A que le plasma humain.

Chez le cheval : le sang coagule très lentement ; l'étude du mécanisme de la coagulation chez cet animal a fait l'objet de plusieurs publications dont les conclusions sont contradictoires. Ainsi, en 1955, Bell et collaborateurs (2) ont montré que la thromboplastino-formation était plus lente chez cet animal que chez l'homme en rapport avec une faible teneur en facteur prothromboplastique A. Au contraire, K.E. Sjolín (14), en 1956, a montré que le facteur prothromboplastique A était à un taux identique à celui du plasma humain, mais que le taux de facteur prothromboplastique B était nettement plus bas. Tout récemment, ce même auteur a révisé ses conceptions antérieures et montré que ce n'était pas le facteur prothromboplastique B, mais le facteur prothromboplastique C (facteur Hageman) qui était bas chez le cheval (15). Il utilise pour ses recherches le « thrombin generation test » et fait des mélanges en différentes proportions de plasma de cheval et de plasma humain dépourvu du facteur à doser. L'inconvénient dans ce système de dosage, c'est que l'activité anti-thrombique du plasma de cheval vis-à-vis du plasma humain intervient, et nous nous sommes demandé si les résultats précédents n'étaient pas en partie faussés par cet inhibiteur d'espèce. C'est la raison pour laquelle nous avons trouvé intéressant d'étudier, à notre tour, la coagulation chez cet animal.

Oiseaux.

La poule : dès 1896, Delezenne, puis Dale et Walpole (1916) ont montré que le sang d'oiseau coagulait dans un délai plus long que le sang humain. Plus tard, Seegers et Smitz (13), puis Burstein (6) ont étudié le pouvoir anti-thrombique du plasma de poule et d'oie, mais la thromboplastino-formation n'a jamais fait l'objet d'aucun travail.

Devant ces notions assez vagues, il nous a paru intéressant d'étudier les facteurs plasmatiques et sériques participant à la thromboplastino-formation de différentes espèces animales.

Nous apprécierons comparativement au sang humain :

-- la teneur en ces facteurs

chez les mammifères : lapin
 bœuf
 mouton
 cheval

chez les oiseaux : poule

— le mécanisme de la thromboplastino-formation dans ces différentes espèces.

Puis, nous décrirons la préparation d'un réactif artificiel permettant de doser le facteur prothromboplastique B (application directe de l'étude de la thromboplastino-formation chez la poule).

METHODES DE DOSAGE

Test de thromboplastino-formation de Biggs et Douglas (5).

Nous avons utilisé la technique originale des auteurs en y apportant les modifications suivantes :

a) Adsorption du plasma oxalaté par 10 % de sulfate de baryum, et non par l'hydroxyde d'alumine. L'adsorption est faite à la température ordinaire par agitation constante de la suspension sulfate de baryum/plasma pendant dix minutes.

b) Le sérum dépourvu de prothrombine utilisé dans ce test est obtenu à partir de 5 cm³ de sang recueilli sur une à deux gouttes de thromboplastine homologue. Après coagulation rapide en 40 secondes environ, le sang est maintenu à 37° pendant trois heures, puis centrifugé.

c) L'action prothromboplastique du plasma et du sérum est mesurée en présence d'une suspension de céphaline diluée de façon optimale (1) (extrait chloroformé de cerveau humain préalablement traité par l'acétone selon la méthode de Bell et Alton) (1).

D'autres modifications du test de Biggs ont été faites pour étudier certains points de ce travail ; elles seront envisagées et décrites en temps utile.

d) Test proprement dit :

— Les facteurs prothromboplastiques A, Hageman, P.T.A. et la proaccélélerine sont apportés par le plasma adsorbé.

— Le facteur Stuart et le facteur prothromboplastique B sont apportés par le sérum qui contient également le complexe prothromboplastique C et la proconvertine, mais celle-ci n'a aucun rôle dans la formation de la thromboplastine endogène.

— Le facteur prothromboplastique plaquettaire est apporté sous forme d'une suspension de céphaline dans tous ces tests.

Pour réaliser une mixture de thromboplastino-formation, on constitue un mélange composé de :

— 0,2 cm³ de plasma adsorbé, dilué au 1/5 (2) ;

— 0,2 cm³ de sérum, dilué au 1/10 (2) ;

— 0,2 cm³ de suspension de céphaline.

(1) Chaque lot doit être étalonné.

(2) Dilutions en tampon véronal acétate à pH 7,35.

On recalcifie la mixture avec 0,2 cm³ de CaCl₂ M/40 et l'on déclenche un chronomètre. A intervalles réguliers (toutes les deux minutes), on prélève 0,1 cm³ de mixture recalcifiée que l'on introduit en même temps que 0,1 cm³ de CaCl₂ dans un tube à hémolyse contenant à l'avance 0,1 cm³ de plasma normal déplaquettisé. On déclenche un chronomètre au même moment, et l'on note les temps de coagulation. Ceux-ci se raccourcissent au fur et à mesure de la formation de thromboplastine au sein de la mixture.

Dosages spécifiques des facteurs prothromboplastiques A, B et complexe C (méthode de Soulier et Larrieu) (16)

utilisant un plasma déplaquettisé dépourvu du facteur à doser et riche en tous les autres facteurs de coagulation, ce qui rend négligeables les variations individuelles en ces facteurs des plasmas à tester.

Pour le dosage du facteur prothromboplastique A, le réactif est un plasma d'hémophile A. Pour le dosage du facteur prothromboplastique B (P.T.C.), un plasma d'hémophile B.

Pour le dosage du facteur Hageman, on utilise comme réactif un plasma humain de Hageman-trait. Ce plasma est celui d'un malade incapable d'activer son facteur Hageman après contact avec le verre.

Pour le dosage du facteur P.T.A., on utilise comme substrat réactif un plasma humain dépourvu de ce facteur.

Technique : On mesure le raccourcissement du temps de coagulation du réactif par une dilution au 1/20 du plasma à tester, comparativement à un plasma témoin humain, en présence de facteur lipidique plaquettaire.

Test proprement dit : A 0,1 cm³ de réactif, on ajoute 0,1 cm³ de plasma à tester dilué au 1/20^e, 0,1 cm³ de solution de céphaline au 1/1000^e et 0,1 cm³ de CaCl₂ M/40. On note le temps de coagulation des mélanges.

Dosages des éléments du « Complexe facteur VII »

(proconvertine et facteur Stuart) (10).

Nous avons utilisé la technique d'Owren-Koller. Le réactif est constitué par du plasma de bœuf filtré sur filtre Seitz à 20 % d'amiante, dépourvu de proconvertine et de facteur Stuart.

La technique de dosage est la suivante : à 0,1 cm³ de réactif, on ajoute 0,1 cm³ de plasma à tester dilué au 1/10^e et 0,2 cm³ de thromboplastine calcique. On note le temps de coagulation.

Pour étudier électivement le facteur Stuart, nous avons fait appel à deux tests : le « temps de Stypven » et le « temps de Stypven-Céphaline ».

Technique :

Temps de Stypven : A 0,1 cm³ de plasma, on ajoute 0,1 cm³ de stypven 1/200.000^e et 0,1 cm³ de CaCl₂ M/40.

Temps de Stypven-Céphaline : A 0,1 cm³ de plasma, on ajoute 0,1 cm³ d'un mélange à parties égales de stypven 1/200.000 et de céphaline au 1/200^e, puis 0,1 cm³ de CaCl₂ M/40.

Interprétation des résultats : La thromboplastine tissulaire que l'on utilise dans la mesure du temps de Quick est un complexe lipoprotéique analogue au produit intermédiaire. Le stypven (venin de vipère Russell) dispense de proconvertine. Lorsqu'un plasma manque de facteur Stuart, le temps de Quick ainsi que le temps de stypven sont allongés. Au

contraire, si le plasma est riche en facteur Stuart, mais pauvre en proconvertine, le temps de Quick sera très long, alors que le temps de stypven sera identique à celui du plasma normal. Ceci n'est vrai que si le plasma à tester n'a pas un déficit associé en proaccélélerine ou en prothrombine.

Le « temps de stypven-céphaline » présente l'intérêt d'apporter un excès de lipides, rendant ainsi négligeables les variations individuelles en ce facteur des plasmas à tester.

Dosage de la proaccélélerine.

Nous avons utilisé la technique d'Owren et de Koller, modifiée par J.-P. Soulier et M.-J. Larrieu (17). Le principe est le même que celui du dosage du « complexe proconvertinique ».

Technique : A 0,1 cm³ de réactif (plasma dépourvu de proaccélélerine), on ajoute 0,1 cm³ de plasma à tester dilué au 1/10^e et 0,2 cm³ de thromboplastine calcique. On note la coagulation.

Dosage de l'activité thromboplastique globale

(méthode de Soulier et Larrieu) (18)

Utilisant un plasma réactif de cheval, traité de telle façon qu'il soit incoagulable après recalcification à 37°, mais coagulable rapidement en présence de petites quantités de thromboplastine.

Technique : A 0,1 cm³ de réactif, on ajoute 0,1 cm³ de plasma à tester dilué au 1/20^e (centrifugé à haute vitesse) et 0,1 cm³ de CaCl₂ M/40. Par cette méthode, on dose, non pas la prothrombinase, mais la « thromboplastine préformée » qui peut exister dans un plasma décalcifié.

On sait maintenant que le plasma de cheval n'est pas un bon réactif de dosage de la thromboplastine exogène. Actuellement, nous utilisons un plasma humain dialysé contre de l'eau distillée exempt de facteur lipidique plaquettaire selon la technique de Burstein et Soulier (7^{bis}).

N.B. — Dans ce travail, nous parlerons aussi du temps de Quick qui mesure à la fois la prothrombine, la proconvertine, le facteur Stuart et la proaccélélerine. Il consiste à mesurer le temps de recalcification d'un plasma en présence de thromboplastine tissulaire.

Technique : A 0,1 cm³ de plasma, on ajoute 0,1 cm³ de thromboplastine et 0,1 cm³ de CaCl₂ M/40.

LES MAMMIFÈRES

I. — ETUDE DE LA THROMBOPLASTINO-FORMATION DU LAPIN

A. — A l'aide du test de Biggs et Douglas

1° Etude de la thromboplastino-formation globale chez le lapin (mixture composée de plasma et de sérum de lapin).

Les résultats sont représentés graphiquement. Dans la figure 1, on remarque que l'activité thromboplastique finale est identique chez l'homme et le lapin, mais la réaction se déclenche beaucoup plus précocement chez ce dernier.

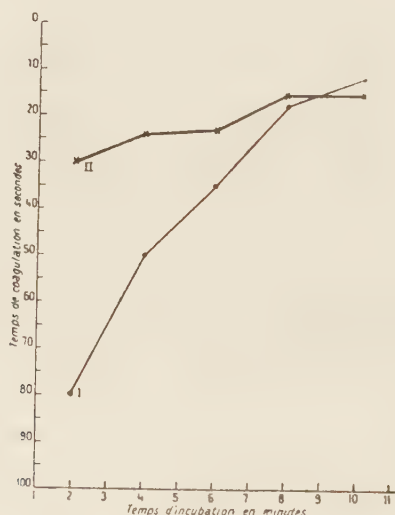


FIGURE I. — Etude de la thromboplastino-formation globale chez l'homme et le lapin.

Courbe I : chez l'homme.

Courbe II : chez le lapin.

Devant ces résultats, nous avons recherché lequel du plasma ou du sérum était responsable de cette hyperactivité initiale.

a) Mesure de l'activité thromboplastino-formatrice du plasma de lapin (fig. 2) : la thromboplastino-formation est nettement supérieure à celle du plasma humain.

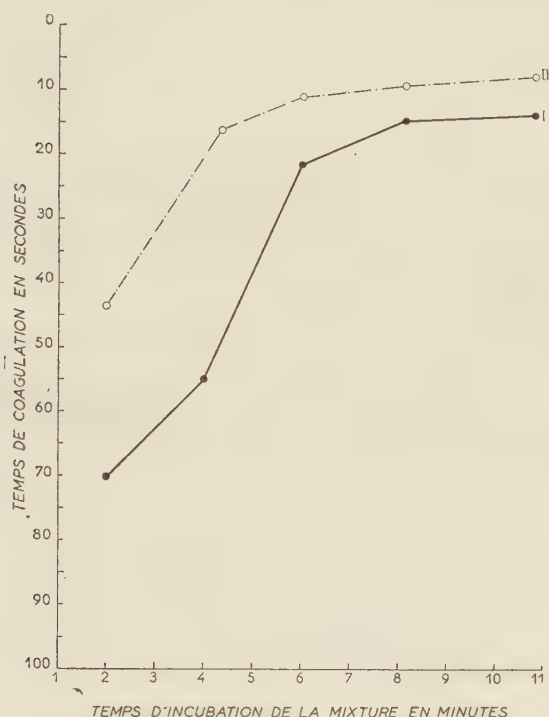


FIGURE II. — Etude de l'activité prothromboplastique du plasma de lapin à l'aide du test de Biggs.

Courbe I : plasma humain.

Courbe II : plasma de lapin.

b) Mesure de l'activité thromboplastino-formatrice du sérum de lapin (fig. 3) : les courbes de thromboplastino-formation varient d'un sérum à l'autre, mais, dans l'ensemble, le sérum de lapin se comporte comme le sérum humain à ceci près que la thromboplastine formée à la fin de la réaction est légèrement inférieure à celle obtenue avec un sérum humain.

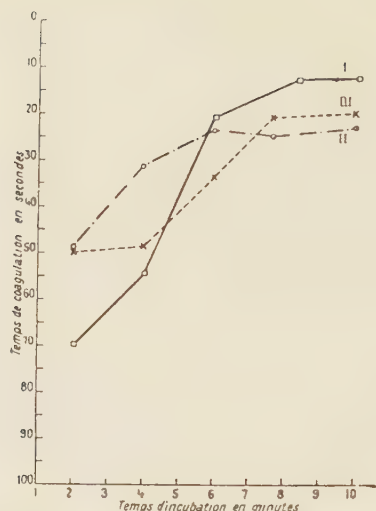


FIGURE III. — Etude de l'activité prothrombotique du sérum de lapin à l'aide du test de Biggs.

Courbe I : sérum humain.

Courbe II : sérum de lapin.

Courbe III : sérum de lapin + sérum humain (mélange à parties égales).

N.B. — Le fait de recueillir, pour le test de Biggs sérique, le sang sur thromboplastine d'homme ou de lapin ne modifie pas les résultats de façon importante (fig. 4).

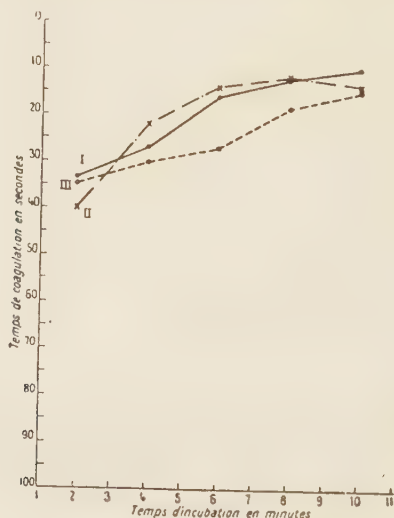


FIGURE IV. — Test de thromboplastino-formation : mesure de l'activité du sérum de lapin prélevé sur thromboplastine humaine ou de lapin pour le déprothrombiner.

Courbe I : sérum humain.

Courbe II : sérum de lapin (sang prélevé sur thromboplastine humaine).

Courbe III : sérum de lapin (sang prélevé sur thromboplastine de lapin).

Notons qu'il existe une quantité non négligeable de « thromboplastine préformée » dans le plasma de lapin.

Mesure de l'activité thromboplastique « préformée » du plasma de lapin :

	Activité thromboplastique
Plasma humain	6'
Plasma de lapin	3'

L'hyperthromboplastinémie du plasma de lapin est manifeste, et n'est pas en rapport avec une contamination de thromboplastine tissulaire exogène. Cette hyperthromboplastinémie initiale est d'origine différente de celle qui se forme au cours de la coagulation, mais elle intervient dans le test de Biggs ; elle est en partie responsable de la rapidité initiale de la réaction.

E. - Dosages spécifiques des facteurs prothromboplastiques plasmatiques contribuant à la formation du premier produit intermédiaire

	Plasma humain		Plasma lapin	
	Temps	Taux	Temps	Taux
Facteur prothromboplastique A	3'55"	100%	2'15"	350%
Facteur prothromboplastique B	4'30"	100%	4'30"	100%
Complexe prothromboplastique C :				
Facteur contact ou facteur Hageman..	2'	100%	2'45"	42%
Facteur P.T.A.	5'45"	100%	4'30"	250%

Teneur du plasma de lapin en facteurs prothromboplastiques A, B, facteur Hageman et P.T.A. par rapport au plasma humain

Les résultats précédents sont en bon accord avec ceux du test de Biggs. Le taux de facteur prothromboplastique A du plasma de lapin est 3 à 4 fois plus élevé que celui du plasma humain (cf. tableau ci-dessous). C'est la raison pour laquelle le test de Biggs du plasma de lapin est accéléré.

	Dosage de facteur prothromboplastique A	
	Temps	Taux
Plasma humain	2'50"	100%
Plasma lapin	2'30"	+ de 100%
Plasma lapin dilué au 1/2 par rapport au plasma humain	2'40"	+ de 100%
Plasma lapin dilué au 2/5 par rapport au plasma humain	2'45"	+ de 100%
Plasma lapin dilué au 1/3 par rapport au plasma humain	2'50"	100%

Recherche de la dilution de plasma de lapin correspondant à 100% de facteur prothromboplastique A humain

Le taux de facteur prothromboplastique B est identique à celui du plasma humain alors que le taux de facteur Hageman actif est d'environ 50% et celui de P.T.A. 250%.

C. -- Etude des éléments intervenant dans la deuxième phase de la thromboplastino-formation

1° Etude du « complexe facteur VII ».

	Thromboplastine	
	humaine	lapin
Plasma humain	18"	22"
Plasma lapin	25"	17"

Lorsqu'on utilise de la thromboplastine tissulaire humaine dans ce dosage, les temps de coagulation sont plus longs chez le lapin que chez l'homme. Mais si l'on compare les temps de coagulation des dosages du « complexe facteur VII » en présence de thromboplastine homologue (17"/18"), les temps sont sensiblement identiques. Cependant, le temps de stypven est nettement plus court chez le lapin (15"/22") ainsi que le temps de stypven-céphaline (10"/12"). Le taux de facteur Stuart du plasma de lapin est donc supérieur à celui du plasma humain.

2° Etude de la proaccéléline du plasma de lapin.

Les temps de proaccéléline du plasma de lapin sont beaucoup plus courts que ceux du plasma humain, ce qui est conforme à ce que Quick et Stefanini (12) avaient observé. Il n'y a pas de différence notable entre les résultats obtenus en utilisant de la thromboplastine cérébrale humaine ou de lapin.

Par des épreuves de dilutions successives, nous avons constaté que le plasma de lapin contenait environ 40 fois plus de proaccéléline que le plasma humain.

	Thromboplastine	
	humaine	lapin
Plasma humain	25"	28"
Plasma lapin	14"	15"50

CONCLUSION

La thromboplastino-formation globale chez le lapin est sensiblement identique à celle de l'homme. Cependant, la teneur en certains facteurs est différente.

Le plasma de lapin contient environ 3 à 4 fois plus de facteur prothromboplastique A, 2 à 3 fois plus de P.T.A., un taux identique de facteur prothromboplastique B que le plasma humain et 1/2 fois moins de facteur Hageman activable. Bien que le facteur Stuart n'ait pas été mesuré quantitativement, nous pensons qu'il existe dans le plasma de lapin à un taux supérieur à celui du plasma humain ; quant au taux de proaccéléline, il est au moins 40 fois plus élevé que celui de l'homme.

II. ETUDE DE LA THROMBOPLASTINO-FORMATION CHEZ LE BŒUF

A. — A l'aide du test de Biggs et Douglas

Nous n'avons étudié que la thromboplastino-formation plasmatique (fig. 5). Celle-ci est très supérieure à celle du plasma humain.

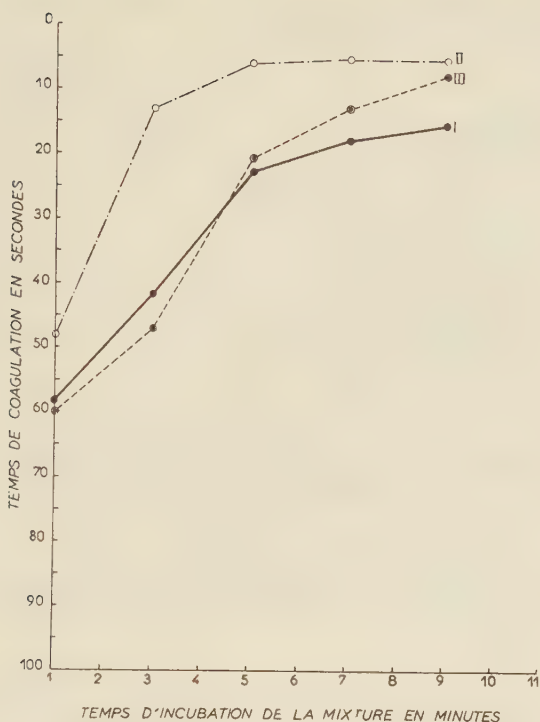


FIGURE V — Etude de l'activité prothromboplastique du plasma de bœuf à l'aide du test de Biggs.

Courbe I : plasma humain.
 Courbe II : plasma de bœuf.
 Courbe III : plasma de bœuf dilué quatre fois.

La formation de thromboplastine endogène est identique à celle du plasma humain lorsque le plasma de bœuf est dilué 4 fois plus (fig. 5).

B. — Dosages spécifiques des facteurs prothromboplastiques contribuant à la formation du premier produit intermédiaire

	Plasma humain		Plasma bœuf	
	Temps	Taux	Temps	Taux
Facteur prothromboplastique A..	3'50"	100%	2'20"	+ de 100%
Facteur prothromboplastique B..	3'15"	100%	3'30"	80% env.
Complexe prothromboplastique C :				
Facteur Hageman (fact. contact)	2'55"	100%	3'30"	20 à 40%
Facteur P.T.A.	5'45"	100%	2'40"	+ de 100%

Teneur du plasma de bœuf en facteurs prothromboplastiques A, B, facteur Hageman et P.T.A. par rapport au plasma humain

Le taux de facteur prothromboplastique B est sensiblement identique ou légèrement inférieur à celui du plasma humain, alors que le taux de facteur Hageman activé est plus faible (entre 20 et 40%). Au contraire, le taux de facteur prothromboplastique A est nettement supérieur ainsi que celui de P.T.A.

Nous avons recherché, à l'aide de la méthode spécifique de Soulier et Larrieu, quelle dilution de plasma de bœuf permettait de coaguler le

réactif A dans le même délai que le plasma humain, afin de préciser le taux de facteur prothromboplastique A. .

	Dosage de facteur prothromboplastique A
Plasma humain	3'15"
Plasma de bœuf non dilué	2'20"
Plasma de bœuf dilué aux 2/3	2'30"
Plasma de bœuf dilué au 1/2	2'30"
Plasma de bœuf dilué aux 2/5	2'30"
Plasma de bœuf dilué au 1/3	2'30"
Plasma de bœuf dilué au 1/5	2'50"
Plasma de bœuf dilué aux 2/15	3'10"
Plasma de bœuf dilué au 1/10	3'10"
Plasma de bœuf dilué aux 2/30	3'10"
Plasma de bœuf dilué au 1/20	3'20"

Il existe 15 à 20 fois plus de facteur prothromboplastique A dans le plasma de bœuf que dans le plasma humain. Nos résultats sont en accord avec ceux publiés par R.M. Biggs, R.G. Macfarlane et E. Bidwell (8) (3). D'autre part, nous avons constaté que le facteur prothromboplastique A de bœuf était stable dans le plasma oxalaté et dans le plasma citraté, alors que le facteur A humain ne se conservait que 6 à 8 jours à + 4° (en plasma citraté seulement).

N.B. — Selon Spaet et Garner (19), le plasma humain contient un inhibiteur susceptible d'exercer son action sur le facteur prothromboplastique A de bœuf.

C. — Dosages spécifiques des facteurs intervenant dans la deuxième partie de la thromboplastino-formation

1° Etude du « complexe facteur VII ».

	Temps de coagulation
Plasma humain	17"50
Plasma de bœuf	25"50

— Le « complexe facteur VII » chez le bœuf est moins élevé que chez l'homme (les mesures ont été faites avec de la thromboplastine humaine).

— Le temps de styphen est légèrement plus long (21"/16"50), mais le temps de styphen-céphaline est presque identique à celui de l'homme (12"/10"). C'est donc surtout le taux de proconvertine qui est plus faible chez le bœuf.

2° Etude de la proaccélélerine.

	Temps de coagulation
Plasma humain	24"
Plasma de bœuf non dilué	20"
Plasma de bœuf dilué au 1/2	20"
Plasma de bœuf dilué au 1/3	22"
Plasma de bœuf dilué au 1/4	24"

Le taux de proaccélélerine du plasma de bœuf est 4 fois plus élevé que celui du plasma humain.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Stormorken (1957) (20) et en désaccord avec ceux de Murphy et Seegers (1948) (9) qui trouvent 9 et 12 fois plus de proaccélélerine chez le bœuf. Alors que le sérum humain normal ne possède plus d'accélélerine deux heures après la coagulation, le sérum de bœuf conservé à la température ordinaire pendant 24 heures est encore très riche en ce facteur. Stormorken a également constaté que la proaccélélerine et l'accélélerine de bœuf étaient plus stables que celles de l'homme (20).

	Dosage de proaccélérine
Plasma humain	25"
Plasma de bœuf	20"
	Dosage d'accélérine
Sérum humain oxalaté adsorbé	65"
Sérum de bœuf oxalaté adsorbé	15"

Ces dosages ont été faits en présence de thromboplastine humaine.

CONCLUSION

Chez le bœuf, le taux de facteur prothromboplastique B est de 40 à 60 % de la normale humaine alors que le taux de facteur Hageman activé est compris entre 20 et 30 %. Au contraire, le facteur prothromboplastique A et la proaccélérine sont respectivement 20 fois et 4 fois plus élevés que chez l'homme. Le taux de P.T.A. est aussi beaucoup plus élevé. Quant au taux de facteur Stuart, il est légèrement plus faible, alors que le taux de proconvertine est nettement plus bas chez cet animal.

III. — ETUDE DE LA THROMBOPLASTINO-FORMATION CHEZ LE MOUTON

A. — A l'aide du test de Biggs et Douglas

Nous avons exécuté des tests de Biggs avec le plasma et le sérum de mouton. Nous observons que, dans tous les cas, la thromboplastinoformation est plus importante chez le mouton que chez l'homme (fig. 6, 7, 8).

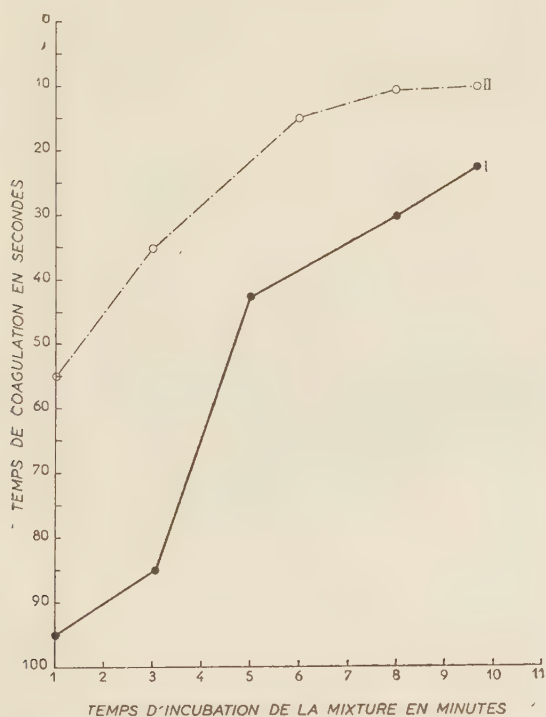


FIGURE VI. — Etude de la thromboplastino-formation globale chez l'homme et le mouton.

Courbe I : thromboplastino-formation chez l'homme.
Courbe II : thromboplastino-formation chez le mouton

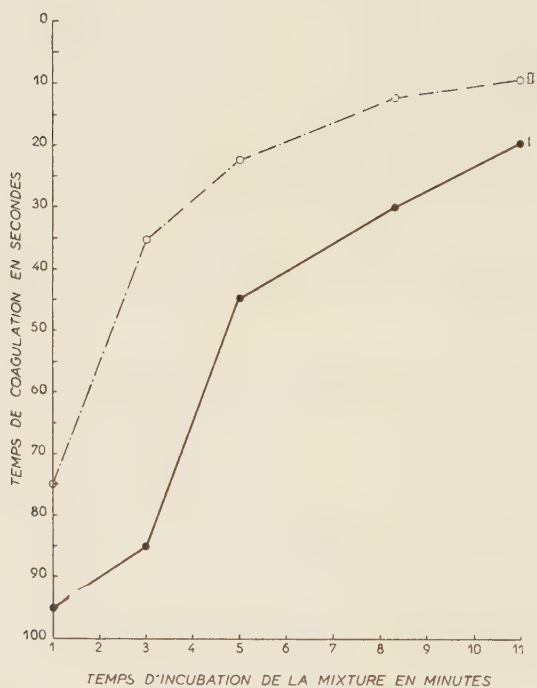


FIGURE VII. — Etude de l'activité prothromboplastique du plasma de mouton à l'aide du test de Biggs.

Courbe I : plasma humain.

Courbe II : plasma de mouton.

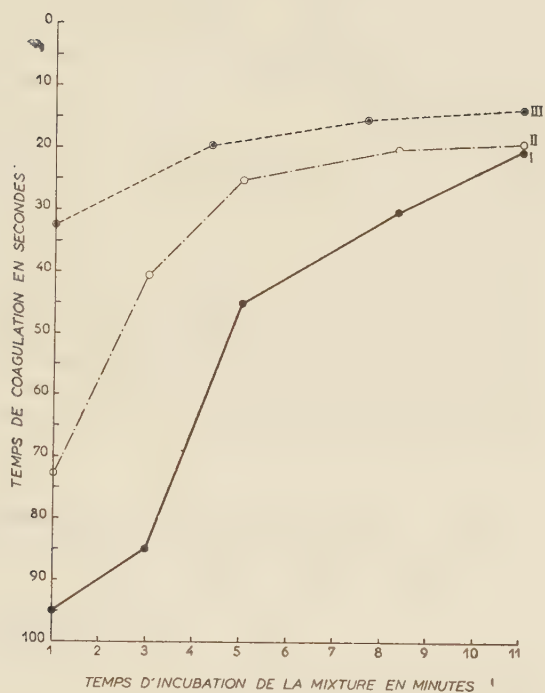


FIGURE VIII. — Etude de l'activité prothromboplastique du sérum de mouton à l'aide du test de Biggs.

Courbe I : sérum humain.

Courbe II : sérum de mouton (sang prélevé sur thromboplastine humaine).

Courbe III : sérum de mouton (sang prélevé sur thromboplastine de mouton).

B. — Dosages spécifiques des facteurs prothromboplastiques plasmatiques A, B et facteur Hageman chez le mouton

	Plasma humain	Plasma mouton
Facteur prothromboplastique A	2'45"	2'15"
Facteur prothromboplastique B	2'45"	2'15"
Facteur Hageman	4'45"	3'

Teneur du plasma de mouton en facteurs prothromboplastiques A, B et facteur Hageman par rapport au plasma humain

Les taux de facteurs prothromboplastiques sont plus élevés chez le mouton que chez l'homme (les temps obtenus sont plus courts). Mais la ponction jugulaire est difficile et nous nous sommes demandé si la contamination avec de la thromboplastine tissulaire ne venait pas interférer avec les résultats. En effet, le réactif de base utilisé pour les dosages des facteurs prothromboplastiques est très sensible à cet apport exogène de thromboplastine.

	Temps de coagulation
Plasma humain	18'
Plasma de mouton	8'45"

Dosage de l'activité thromboplastique préformée du plasma de mouton

Cette activité thromboplastique exogène met en doute les résultats précédents. Cependant, l'action de la thromboplastine préformée, dans le test de Biggs plasmatique du mouton, devrait se manifester dès le début de la réaction (fig. 7). En fait, la thromboplastino-formation est progressive et s'accélère plus rapidement qu'au cours de la thromboplastino-formation humaine. C'est donc que le taux de facteur A et celui de proaccélélerine, comme nous allons le voir plus loin, sont plus élevés chez cet animal.

C. — Dosages spécifiques des facteurs intervenant dans la deuxième phase de la thromboplastino-formation
1° Etude du « complexe facteur VII ».

	Thromboplastine	
	humaine	mouton
Plasma humain	25"	71"
Plasma de mouton	28"	33"

2° Etude de la proaccélélerine.

	Thromboplastine	
	humaine	mouton
Plasma humain	25"	75"
Plasma de mouton	18"	43"

Les temps de « complexe facteur VII » (28"/25") en utilisant de la thromboplastine humaine sont légèrement plus longs que ceux obtenus avec le plasma humain, alors que ceux de proaccélélerine sont, au contraire, franchement plus courts (18"/25"). Ces mêmes dosages, faits en présence de thromboplastine de mouton, sont difficiles à interpréter, car la thromboplastine tissulaire (pulmonaire ou cérébrale) de mouton est d'action faible.

Notons que l'hétérospecificité entre plasma humain et thromboplastine tissulaire de mouton est manifeste, alors que la prothrombinase de mouton fait coaguler rapidement le plasma humain.

CONCLUSION

Les taux de facteurs prothromboplastiques A, B et facteur Hageman du plasma de mouton sont plus élevés que ceux du plasma humain. Le « complexe facteur VII » est proche de celui de l'homme alors que la proaccélélerine est nettement plus élevée (environ 20 fois plus).

IV. — ETUDE DE LA THROMBOPLASTINO-FORMATION CHEZ LE CHEVAL

A. — A l'aide du test de Biggs et Douglas

La courbe de thromboplastino-formation du plasma de cheval est plus plate que celle du plasma humain (fig. 9), mais les résultats sont assez différents d'un animal à l'autre. K.E. Sjolin a constaté également des différences importantes selon les plasmas qu'il étudiait (15).

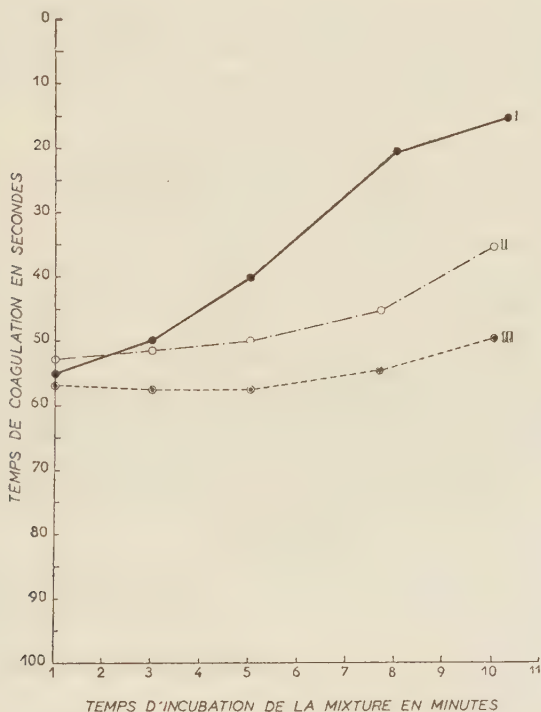


FIGURE IX. — 1. Etude de l'activité thromboplastino-formatrice du plasma de cheval.

2. Mise en évidence d'un inhibiteur d'espèce.

Courbe I : plasma humain.

Courbe II : plasma de cheval.

Courbe III : plasma humain + plasma de cheval mélangés à parties égales.

Ce retard de thromboplastino-formation n'est pas en rapport avec un déficit plasmatique comme nous l'avions pensé tout d'abord, ou bien les déficits éventuels ne sont pas seuls en cause, car le mélange à parties égales de plasma humain et de plasma de cheval ne forme pas de thromboplastine.

Notons que la proaccélélerine de cheval est en partie adsorbée par le SO_4Ba . Elle se trouve donc à un taux inférieur à ce qui est nécessaire pour que la thromboplastine plasmatique se forme normalement.

N.B. — Il est très difficile de déprothrombiner le sérum de cheval et nous n'avons pas obtenu de résultats satisfaisants d'étude de la thromboplastino-formation sérique.

B. — Dosages spécifiques des facteurs prothromboplastiques A, B, P.T.A. et facteur Hageman dans le plasma de cheval

Dosage du facteur prothromboplastique A.

	Temps de coagulation
Plasma humain	3'35"
Plasma de cheval	4'25"

Recherche d'un inhibiteur éventuel :

	Temps de coagulation
0,1 réactif A + 0,1 plasma humain dilué au 1/20° + 0,1 céphaline + 0,1 CaCl_2	2'45"
0,1 réactif A + 0,1 mélange à parties égales de plasma humain + plasma cheval dilué au 1/20° + 0,1 céphaline + 0,1 CaCl_2	3'15"
0,1 réactif A + 0,1 mélange à parties égales de plasma humain + sérum physiол. dilué au 1/20° + 0,1 céphaline + 0,1 CaCl_2	2'45"

Pour mettre en évidence un effet inhibiteur fruste, nous avons incubé pendant une demi-heure le réactif de dosage et le mélange de plasma humain et de cheval (cf. tableau ci-dessus).

Il existe un inhibiteur d'espèce dans le plasma de cheval (peut-être identique à celui qui allonge le temps de thrombine du plasma humain) qui interfère dans la mesure du facteur prothromboplastique A. En effet, si le plasma de cheval était déficitaire en facteur prothromboplastique A, le dosage du mélange à parties égales plasma humain-plasma cheval devrait être normal.

Dosage du facteur prothromboplastique B :

	Temps de coagulation
Plasma humain	3'10"
Plasma de cheval	4'35"

Recherche d'un inhibiteur éventuel :

	Temps de coagulation
0,1 réactif B + 0,1 pl. humain + 0,1 céphaline + 0,1 CaCl_2	2'10"
0,1 réactif B + 0,1 mélange pl. humain + pl. cheval + 0,1 céphaline + 0,1 CaCl_2	3'15"
0,1 réactif B + 0,1 mélange pl. humain + sérum physiologique + 0,1 céphaline + 0,1 CaCl_2	2'10"

Les mélanges sont faits à parties égales ; plasmas et mélanges à tester sont dilués au 1/20.

Pour sensibiliser la méthode, nous avons incubé 30' le réactif et le plasma à tester.

Les mêmes remarques que pour le dosage de facteur prothromboplastique A sont valables.

Il existe un inhibiteur d'espèce dans le plasma de cheval, et nous ne pouvons conclure à un déficit en facteur prothromboplastique B.

Dosage du facteur Hageman :

	Temps de coagulation
Plasma humain	4'30"
Plasma de cheval	4'30"
Mélange à parties égales plasma humain + plasma de cheval	4'30"

La recherche d'un inhibiteur anti-Hageman est négative et le taux de facteur Hageman activable par le verre semble identique à celui de l'homme.

D'après ces derniers résultats, on peut se demander s'il n'existe pas un inhibiteur spécifique des facteurs prothromboplastiques A et B, différent de l'antithrombine.

Dosage du P.T.A. :

Les quelques dosages que nous avons pu faire montrent peu de P.T.A. dans le plasma de cheval.

D'autres recherches sont en cours pour confirmer ces résultats.

C. — Etude des éléments intervenant dans la deuxième phase de la thromboplastino-formation

1° Dosage du « complexe facteur VII ».

	Thromboplastine	
	humaine	cheval
Plasma humain	19"	20"
Plasma de cheval	23"	13"

K.E. Sjölin (15) a montré que le temps de Quick du plasma de cheval était légèrement plus long que celui du plasma humain ; nous n'avons pas retrouvé ce fait lorsqu'on utilise pour la mesure du temps de Quick du plasma de cheval de la thromboplastine équine et non de la thromboplastine humaine. Les mêmes remarques sont valables pour le dosage du « complexe facteur VII ».

Le temps de stypven du plasma de cheval est plus long que celui du plasma humain (65"/25") ainsi que le temps de stypven-céphaline (17"/12"). Ces résultats laissent supposer que le taux de facteur Stuart du plasma de cheval est légèrement inférieur à celui du plasma humain.

2° Dosage de la proaccélélerine :

	Thromboplastine	
	humaine	cheval
Plasma humain	28"	37"
Plasma de cheval	24"	18"

Le taux de proaccélélerine du plasma de cheval est environ 5 fois supérieur à celui du plasma humain. Nos résultats sont sensiblement en accord avec ceux publiés par Stormorken (20). Cet auteur a constaté également que la proaccélélerine de cheval était en partie adsorbée par le sulfate de baryum.

CONCLUSION

Il existe un inhibiteur d'espèce dans le plasma de cheval qui intervient dans la mesure de la thromboplastino-formation évaluée par le test de Biggs. En mesurant spécifiquement les facteurs prothromboplastiques A, B, Hageman et P.T.A., nous avons mis en évidence un effet anti-prothromboplastique A et B humain, probablement différent de l'inhibiteur anti-thrombique. Le taux de facteur Hageman activé est identique à celui du plasma humain, alors que le facteur P.T.A. semble très bas chez cet animal.

Le taux de facteur Stuart semble inférieur chez le cheval, bien que le « complexe facteur VII » soit supérieur à celui de l'homme. Il y aurait donc un taux de proconvertine plus élevé chez le cheval ; quant à la proaccélélerine, elle est 20 fois plus élevée.

Nous pensons que la fibrino-formation, différente de celle de l'homme, est aussi responsable en partie de la coagulation lente du sang de cheval. En effet, en présence de thrombine équine, le plasma de cheval coagule lentement alors que cette même thrombine coagule très rapidement un plasma humain.

Le défaut de P.T.A. peut expliquer la diminution de la thromboplastino-formation plasmatique chez le cheval ; mais l'effet antithrombique humain du plasma de cheval peut s'opposer à la mise en évidence de la thromboplastine plasmatique de cheval testée sur un substrat humain, car c'est une action thrombique que l'on dose finalement dans ce test, et c'est peut-être la raison pour laquelle la thromboplastino-formation paraît nulle.

RESUME

Nous avons étudié la thromboplastino-formation et les facteurs intervenant dans cette réaction chez différents mammifères.

La thromboplastino-formation est proche de celle de l'homme chez le lapin, le bœuf et le mouton, bien que certains facteurs soient à des taux différents.

Chez le cheval, nous avons mis en évidence un effet anti-prothromboplastique A et B humains qui ne semble pas lié à l'effet antithrombique.

LES OISEAUX

I. — ETUDE DE LA THROMBOPLASTINO-FORMATION CHEZ LA POULE

La thromboplastino-formation des oiseaux n'a jamais fait l'objet d'aucun travail. Nous donnerons donc nos résultats expérimentaux avec plus de détails que dans les précédents chapitres.

Le sang humain normal coagule beaucoup plus lentement en tubes siliconés qu'en tubes de verre.

Le sang de poule coagule lentement à la température ordinaire ; à 37°, le temps de coagulation est compris entre 15 et 20 minutes, que le prélèvement soit fait en tubes siliconés ou en tubes de verre. Nous avons fait les mêmes constatations sur le plasma (tableau ci-dessous).

Temps de coagulation à 37° :		
	Verre	Silicone
Poule 1	15'	14'
Poule 2	20'	20'

Cette particularité n'est pas due aux plaquettes. Celles-ci sont des mégathrombocytes de 5 μ de diamètre environ qui sédimentent avec les globules rouges au cours de la centrifugation. Le temps de coagulation à 18° est de 35 minutes environ, alors que le temps de recalcification est de plus de 20 minutes lorsqu'on recalcifie avec un volume de chlorure de calcium égal au quart du volume plasmatique. Le sang et le plasma de poule se comportent donc différemment de ceux d'un hémophile A ou B humain. En effet, avec un temps de recalcification de cet ordre de grandeur, le temps de coagulation d'un hémophile serait de plusieurs heures. Le sang de poule se comporte, en ce sens, comme un sang de « Hageman trait ».

Temps de recalcification à 37° :				
Technique	Plasma humain normal		Plasma poule	
	Verre	Silicone	Verre	Silicone
0,2 cm ³ plasma intact ⁽¹⁾ + 0,05 CaCl ₂ M/10	4'30"	26'	30'	36'
0,2 cm ³ plasma intact ⁽¹⁾ + 0,05 CaCl ₂ M/10 céphaline	2'45"	7'	6'20"	6'20"

⁽¹⁾ Dans ce chapitre, nous appellerons **plasma intact** tout plasma n'ayant jamais été en contact avec le verre : sang citraté prélevé en verrerie siliconée, centrifugé à + 4° à haute vitesse deux fois ; décanté avec une pipette siliconée et conservé en verrerie siliconée. Sous le nom de **plasma contact**, nous entendrons un plasma citraté ayant été agité avec des perles de verre de 2 à 3 mm de diamètre pendant dix minutes.

TABLEAU I

Modifications du taux de facteur prothromboplastique A du plasma de poule au cours de la conservation

	Jour du prélèvement	24 heures après le prélèvement	48 heures après le prélèvement	72 heures après le prélèvement
Plasma humain conservé à la température ordinaire...	2 mn 45 s	2 mn 50 s	—	—
Plasma poule conservé à la température ordinaire.....	2 mn 50 s	4 mn 05 s	—	—
Plasma humain conservé à 37° en tube de verre.....	2 mn 45 s	3 mn 50 s	6 mn	—
Plasma humain conservé à 0° en verrerie siliconée....	2 mn 45 s	3 mn	3 mn 35 s	4 mn 15 s
Plasma poule conservé à 37° en tube de verre.....	2 mn 45 s	6 mn 50 s	10 mn 40 s	—
Plasma poule conservé à 0° en verrerie siliconée.....	2 mn 45 s	3 mn	4 mn 50 s	5 mn
Mélange : 1 cm ³ plasma humain + 0,4 cm ³ plasma poule, 37° en verre	2 mn 55 s	3 mn 15 s	6 mn 55 s	—
Mélange : 1 cm ³ plasma humain + 0,4 cm ³ de tampon, 37° en verre	2 mn 50 s	3 mn 50 s	6 mn 40 s	—
Plasma humain congelé-décongelé	3 mn	—	—	—
Plasma poule congelé-décongelé	3 mn 45 s	—	—	—
Plasma humain frais	2 mn 45 s	3 mn	3 mn	3 mn
Plasma poule frais	2 mn 45 s	3 mn	3 mn	3 mn

A. — Dosage des profacteurs plasmatiques chez la poule

Mesure du facteur prothromboplastique A :

	Temps de coagulation	Taux
Plasma humain	3'50"	100%
Plasma de poule	3'50"	100%
Plasma humain + plasma de poule (mélange à parties égales)	3'50"	100%

Le contenu du plasma de poule en facteur prothromboplastique A est identique à celui du plasma humain, mais ce facteur est beaucoup plus labile chez la poule que chez l'homme (tableau I). En effet, le plasma de poule conservé à la température ordinaire perd 50 à 70% de son activité prothromboplastique A en 24 heures, alors que celle du plasma humain est inchangée. La conservation à 0° en verrerie silico-née permet de conserver le facteur prothromboplastique A de poule pendant 48 heures, sans altérer son activité de façon importante. La congélation modifie de façon similaire le facteur A de l'homme et de poule.

Nous n'avons pas mis en évidence de pouvoir inhibiteur dans le plasma de poule vis-à-vis du facteur prothromboplastique A humain (tableau I).

Mesure du facteur prothromboplastique B :

	Temps de coagulation	Taux
Plasma humain	3'40"	100%
Plasma de poule	12'45"	— de 1%
Tampon	12'	

Le plasma de poule paraît contenir moins de 1% de facteur prothromboplastique B par rapport au plasma humain. Mais cette absence de correction du réactif B par le plasma de poule peut être due à un déficit vrai, ou à l'interférence d'un inhibiteur spécifique anti-prothromboplastique B.

Pour éliminer l'une de ces hypothèses, nous avons dosé sur des mélanges en différentes proportions de plasma humain et de plasma de poule, le taux de facteur prothromboplastique B après une incubation de 45 minutes à la température ordinaire (tableau II).

TABLEAU II
Dosage de facteur prothromboplastique B
Recherche d'une activité antiprothromboplastique B humaine
dans le plasma de poule

Mélange incubé 3/4 d'heure		Temps de coagulation du mélange (en dosage de prothromboplastine B)
Plasma humain	Plasma poule	
50 %	50 %	3 mn 15 s
25 %	75 %	3 mn 30 s
10 %	90 %	4 mn
5 %	95 %	4 mn 50 s
Plasma humain seul.		3 mn 15 s
Plasma poule seul.		9 mn

On note :

— que le plasma de poule manque de facteur prothromboplastique B (moins de 1% par rapport au taux plasmatique humain) ;

— qu'il n'existe pas d'effet inhibiteur net à l'égard du facteur prothromboplastique B humain, puisque les temps obtenus avec le mélange à parties égales du plasma de poule et du plasma humain sont identiques à ceux du plasma humain seul. Cependant, une concentration assez élevée de plasma humain (25%) est nécessaire pour corriger complètement le temps de coagulation du mélange.

Mesure du « complexe prothromboplastique C »

a) Mesure du facteur Hageman :

Nous avons utilisé comme substrat un plasma humain **intact** ou **contact** n'activant pas son facteur Hageman (plasma de « Hageman trait »).

SUBSTRAT HAGEMAN

	Intact		Contact	
	Temps		Temps	
	recalcification	Taux	recalcification	Taux
Tampon	8'	0%	6'50"	0%
Plasma humain intact	2'45"	100%	2'45"	100%
Plasma de poule intact	8'45"	— de 1%	6'45"	— de 1%
Plasma humain contact	2'45"	100%	2'45"	100%
Plasma de poule contact....	9'	— de 1%	7'45"	— de 1%
Plasma poule + pl. humain (mélange à parties égales)	2'40"	100%		

D'après ces résultats, il semblerait que le plasma de poule est très légèrement inhibiteur. En effet, alors que le réactif seul coagule en 7'45", il coagule en 9'30" lorsqu'on lui ajoute du plasma de poule dilué au 1/20. Nous avons déjà remarqué ce fait pour le dosage de facteur prothromboplastique B. Nous nous sommes demandé si cette dilution au 1/20 ne favorisait pas l'action et la mise en évidence du pouvoir anti-thrombique humain du plasma de poule. Pour ce fait, nous avons dosé le facteur Hageman du plasma non plus dilué au 1/20, mais au 1/10 et, dans ce cas, le plasma de poule se comporte exactement comme le tampon. De plus, le plasma humain normal corrige ce défaut. Il existe donc bien une non-activation du facteur Hageman, et le plasma de poule se comporte comme un plasma humain d' « Hageman trait ».

b) Mesure du facteur P.T.A. :

SUBSTRAT P.T.A.

	Intact		Contact	
	Temps		Temps	
	recalcification	Taux	recalcification	Taux
Tampon	7'	0%	6'	0%
Plasma humain intact	3'30"	100%	3'20"	100%
Plasma de poule intact	7'10"	— de 1%	6'	— de 1%
Plasma humain contact	3'40"	100%	3'20"	100%
Plasma de poule contact....	7'10"	— de 1%	5'55"	— de 1%
Plasma humain + pl. poule (mélange à parties égales)	3'40"	100%		

Le plasma de poule ne semble pas contenir de P.T.A., et l'apport de ce facteur sous forme de plasma humain normal corrige ce défaut.

Nous avons confirmé les constatations précédentes en recueillant du sang natif (1) de poule sur différents plasmas humains normaux et déficients en certains facteurs de coagulation.

Réactif correcteur	Temps de coagulation du sang natif (1) à 20°	
	En verre	En silicone
0,1 cm ³ tampon citraté	25'	28'
0,1 cm ³ plasma humain normal	10'	20'
0,1 cm ³ plasma manquant de F.P. A	10'	18'
0,1 cm ³ plasma manquant de F.P. B	16'	28'
0,1 cm ³ plasma de « Hageman trait »	20'	28'
0,1 cm ³ plasma manquant de P.T.A.	16'	34'
Sang natif seul	20'	30'

TABLEAU II bis

(1) 1,2 cm³ de sang de poule sont prélevés dans une seringue siliconée et ajoutés à 0,1 cm³ de plasma réactif intact, dans des tubes à hémolyse.

D'autre part, nous avons mesuré le temps de recalcification des mélanges de plasma de poule et de divers plasmas humains manquant de certains facteurs.

Temps de recalcification en verre à 37°		
	0,05 cm ³ CaCl ₂ M/10	0,05 CaCl ₂ M/10 céphaline 1/75
0,2 cm ³ plasma poule	30'	6'20"
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 plasma humain intact	4'30"	3'
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 plasma humain contact	4'30"	2'45"
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 plasma P.T.A. intact ..	27'	7'
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 plasma P.T.A. contact. .	24'	6'
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 plasma Hageman intact	34'	7'
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 pl. Hageman contact	34'	7'
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 plasma hémophile A	4'30"	3'
0,1 cm ³ plasma poule + 0,1 plasma hémophile B + de 20'		6'
0,2 cm ³ plasma témoin humain. .	4'30"	3'

TABLEAU II ter

Les résultats des tableaux II bis et II ter ne font que confirmer les résultats précédemment décrits. En effet, le sang et le plasma de poule ne sont corrigés que par le plasma humain normal et le plasma d'hémophile A. Ils ne sont pas corrigés par les plasmas d'hémophile B ou de « Hageman trait » et très peu corrigés par le plasma humain déficitaire en P.T.A. Dans ce dernier cas, la correction est meilleure lorsque le plasma P.T.A. réactif a été activé par le verre. Ceci est dû à ce que le facteur Hageman, normal dans les déficits en P.T.A., a été activé par le contact.

Notons qu'en étudiant le rôle du contact dans l'initiation de la coagulation, nous avons constaté par l'épreuve de Margolis indirecte modifiée (8^{bis}) (utilisant de la céphaline à la place des plaquettes) que le plasma de poule se comporte de façon intermédiaire aux plasmas de « Hageman trait » et de plasma de déficit en P.T.A. humain.

Nous avons remarqué que le plasma de poule n'était pas activable par le verre comme le plasma de « Hageman trait » et qu'il était partiellement sensible au facteur Hageman activé.

Enfin, nous avons cherché quelle était la quantité de plasma humain normal suffisante à ramener le temps de recalcification du plasma de poule à une valeur très proche de celle du plasma humain. Il faut lui apporter environ 1/10 de son volume de plasma humain. Nous avons constaté, d'autre part, que la dilution de moitié en tampon du plasma de poule raccourcissait considérablement son temps de recalcification de 26'30" à 14', comme dans les plasmas d'hémophile, de « Hageman trait » et de déficit en P.T.A. (tableau ci-dessous).

Temps de recalcification en verre
0,05 CaCl₂ M/10

0,1 plasma poule + 0,1 pl. humain 1/1..	3'30"
0,1 plasma poule + 0,1 pl. humain 1/2..	4'45"
0,1 plasma poule + 0,1 pl. humain 1/5..	4'45"
0,1 plasma poule + 0,1 pl. humain 1/10..	7'15"
0,1 plasma poule + 0,1 pl. humain 1/50..	21'30"
0,1 plasma poule + 0,1 pl. humain 1/100	24'
0,1 tampon	26'30"
0,2 plasma poule	25'
0,1 plasma poule + 0,1 tampon oxalaté	14'

B. — Etude de la thromboplastino-formation chez la poule

La thromboplastino-formation plasmatique, sérique et globale mesurée par le test de Biggs est nulle lorsqu'on utilise un substrat humain (fig. 10).

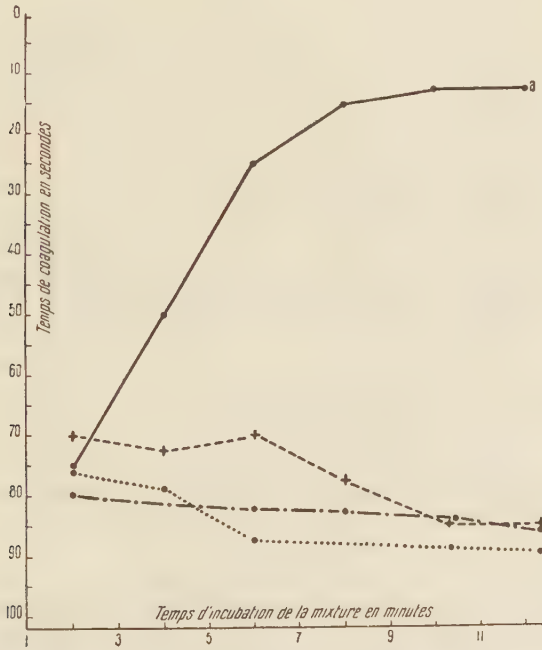


FIGURE X. — Test de thromboplastino-formation. Etude comparative de la thromboplastino-formation chez l'homme et la poule.

Composition de la mixture :

- 0,2 cm³ de suspension de céphaline au 1/25°.
- 0,2 cm³ de plasma adsorbé, dilué au 1/5°.
- 0,2 cm³ de sérum dilué au 1/10°.

Substrat :

Plasma citraté humain déplaquettisé.

Variable :

- Courbe a : plasma humain + sérum humain.
- Courbe b : plasma de poule + sérum humain.
- Courbe c : plasma de poule + sérum de poule.
- Courbe d : plasma humain + sérum de poule.

Interprétation. — Cette absence de thromboplastino-formation (en utilisant comme substrat un plasma déplaquettisé humain) est due soit à un déficit en un ou plusieurs facteurs, soit à un inhibiteur, soit à

l'hétéro-spécificité entre les réactifs utilisés et la thromboplastine formée par les plasma et sérum de poule.

Bien que le manque de « complexe prothromboplastique C » puisse rendre compte de l'absence de thromboplastino-formation avec le plasma de poule ; que le manque de facteurs prothromboplastiques B et C du sérum soit suffisant à expliquer l'absence de thromboplastino-formation sérique, nous nous sommes demandé si l'hétéro-spécificité entre thromboplastine formée et substrat humain sur laquelle on la dose n'intervenait pas.

Pour apprécier le rôle du substrat, nous avons remplacé le plasma humain par du plasma de poule : la thromboplastino-formation globale de la poule (testée sur un substrat de poule) est appréciable (fig. 11. courbes a et b), mais la quantité de thromboplastine formée est inférieure à celle que fournit une mixture humaine testée sur un substrat humain homologue.

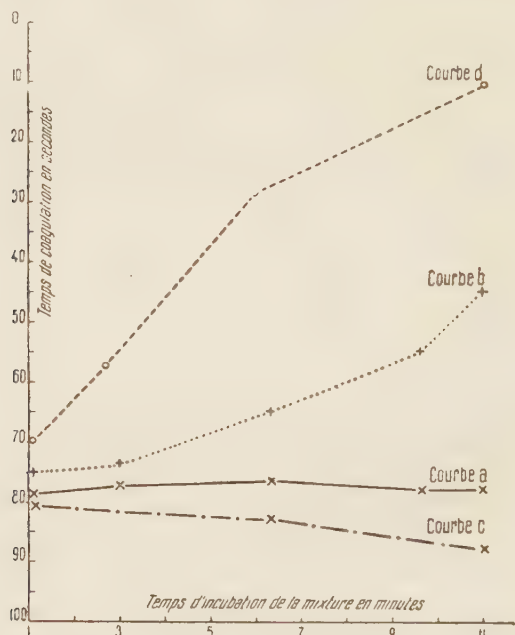


FIGURE XI. — Test de thromboplastino-formation. Mesure de la thromboplastine endogène formée par une mixture composée de plasma, de sérum de poule et de céphaline sur différents substrats.

Variable :

- Courbe a : mixture de poule testée sur un substrat humain.
- Courbe b : mixture de poule testée sur un substrat de poule frais.
- Courbe c : mixture de poule testée sur un substrat de poule ayant séjourné quatre heures à température ordinaire.
- Courbe d : mixture humaine testée sur un substrat humain.

Notons que la même mixture composée de sérum de poule et de plasma de poule ayant séjourné 3 heures à la température ordinaire ne développe plus de thromboplastine, car une petite partie de facteur prothromboplastique A et la majorité de la proaccélélerine sont détruits (fig. 12; courbe c).

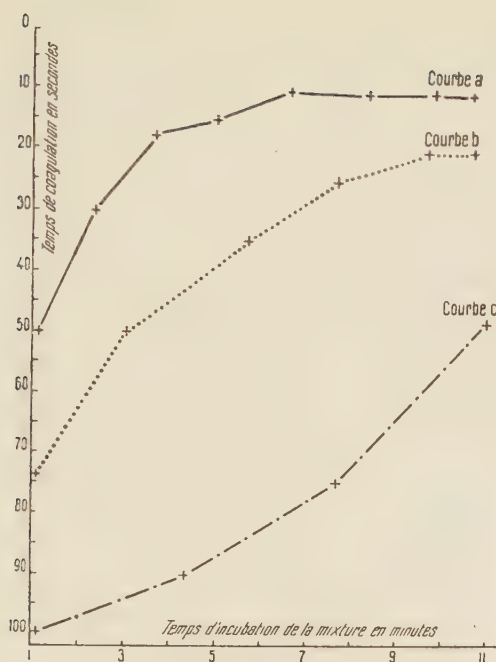


FIGURE XII. — Test de thromboplastino-formation. Mesure de la thromboplastine endogène formée par une mixture humaine testée sur différents substrats.

Variable :

Courbe a : mixture humaine testée sur un substrat humain.

Courbe b : mixture humaine testée sur un substrat de poule frais.

Courbe c : mixture humaine testée sur un substrat de poule ayant séjourné à température ordinaire.

Par ailleurs, nous avons mesuré sur un substrat « poule » la quantité de thromboplastine développée par une mixture humaine (fig. 12). Selon la fraîcheur du substrat, nous avons pu mettre en évidence une quantité non négligeable de thromboplastine.

Des expériences précédentes, il ressort que le sang de poule in vitro est capable de former une faible quantité de thromboplastine (en dix minutes) et cette thromboplastine est plus active à l'égard du plasma de poule que du plasma humain.

La thromboplastine humaine (prothrombinase) est capable de faire coaguler le plasma de poule alors que la thromboplastine tissulaire (incomplète) est inefficace ; donc la spécificité d'espèce intervient dans la formation de la prothrombinase ; celle-ci, une fois faite, agit sur les substrats de diverses espèces.



FIGURE XIII. — Mise en évidence d'un inhibiteur plasmatique, chez la poule, à l'aide du test de thromboplastino-formation.

Substrat :

Plasma citraté humain déplaquetisé.

Mixture de thromboplastino-formation :

0,2 cm³ de sérum humain.

0,2 cm³ mélange de plasma humain + plasma de poule à différentes concentrations.

0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

Composition du mélange de plasma adsorbé :

Courbe b : plasma humain, 4 parties.
plasma de poule, 1 partie.

Courbe c : plasma humain, 2 parties.
plasma de poule, 1 partie.

Courbe d : plasma humain, 1 partie.
plasma de poule, 1 partie.

Courbe e : plasma de poule seul.

Courbe a : plasma humain seul.

**Recherche d'un facteur plasmatique chez la poule
inhibant la thromboplastino-formation humaine**

Lorsqu'on mesure la thromboplastino-formation de mélanges en différentes proportions de plasma humain et de poule, on remarque que la quantité de thromboplastine formée est inversement proportionnelle à la quantité de plasma de poule contenue dans le mélange (fig. 13). Si le plasma de poule n'était pas inhibiteur, la thromboplastino-formation devrait être identique à celle d'un mélange en même proportion de plasma humain et de tampon. Il n'en est rien : la thromboplastino-formation est très nettement inférieure avec le plasma de poule (fig. 14, courbe c par rapport à courbe b).

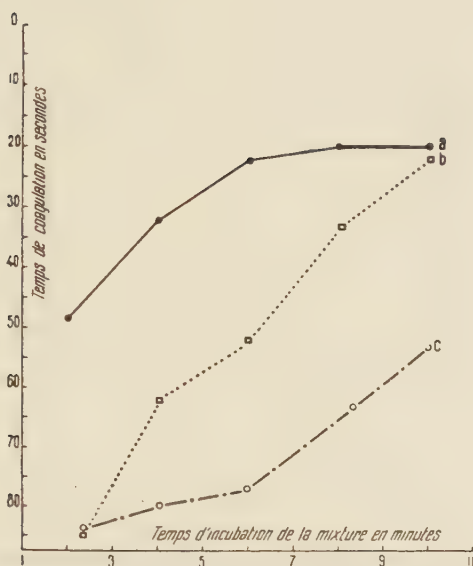


FIGURE XIV. — Mise en évidence d'un inhibiteur plasmatique, chez la poule, à l'aide du test de thromboplastino-formation.

Substrat :

Plasma citraté déplaquettisé humain.

Mixture de thromboplastino-formation :

Courbe a : 0,2 cm³ plasma humain dilué au 1/5°.
 0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.
 0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

Courbe b : 0,15 cm³ plasma humain } (incubation
 dilué au 1/5° 30 minutes)
 0,05 cm³ tampon.
 0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.
 0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

Courbe c : 0,15 cm³ plasma humain } (incubation
 dilué au 1/5° 30 minutes)
 0,05 cm³ plasma de poule
 dilué au 1/5°.
 0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.
 0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

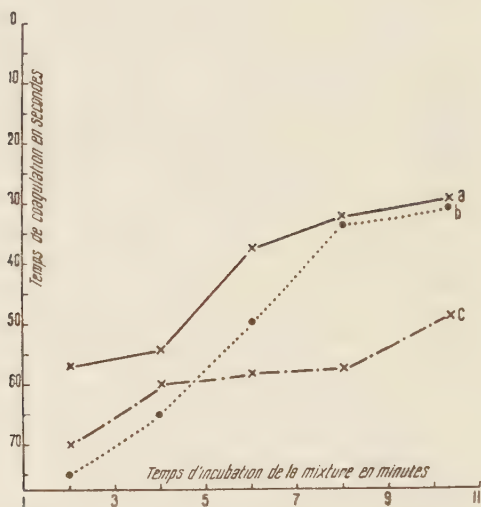


FIGURE XV. — Mise en évidence d'un inhibiteur plasmatique, chez la poule, à l'aide du test de thromboplastino-formation.

Substrat :

Plasma citraté humain déplaquettisé.

Mixture de thromboplastino-formation :

Courbe a (incubation 30 minutes) :

0,2 cm³ plasma adsorbé humain dilué au 1/5°.

0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.

0,1 cm³ tampon.

0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

Courbe b (incubation 30 minutes) :

0,2 cm³ plasma humain dilué au 1/5°.

0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.

0,1 cm³ plasma adsorbé de poule au 1/4, chauffé 64°, 3 minutes.

0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

Courbe c (incubation 30 minutes) :

0,2 cm³ plasma humain dilué au 1/5°.

0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.

0,1 cm³ plasma de poule dilué au 1/4.

0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

D'autre part, si l'on introduit du plasma de poule dans une mixture humaine, la thromboplastino-formation est retardée de façon beaucoup plus nette que si l'on ajoute du tampon à la mixture. Cet effet est net même lorsque le plasma de poule est dilué au 1/4 (fig. 15, courbe a par rapport à courbe c). Par cette méthode, l'effet inhibiteur n'est décelable qu'après incubation de 30 minutes à la température ordinaire du plasma de poule avec la mixture. Sans incubation, l'addition de plasma de poule dilué ne provoque pas d'inhibition (fig. 16).

Le plasma de poule chauffé à 64° pendant 3 minutes (plasma défibriné) n'a aucun effet inhibiteur, même après incubation (fig. 15, courbe b).

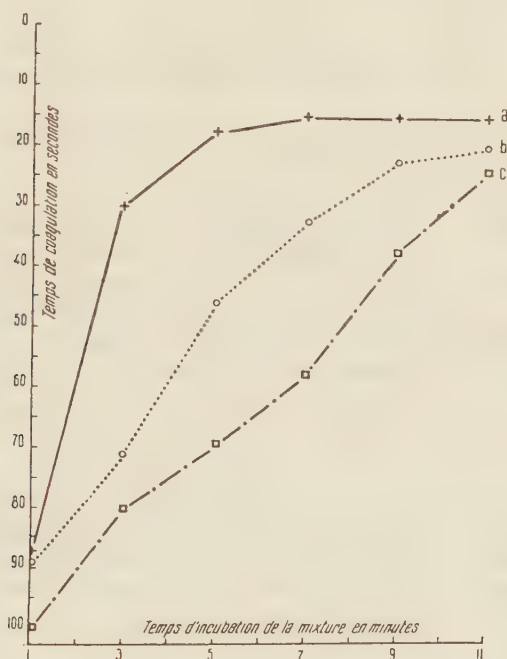


FIGURE XVI. — Recherche d'un inhibiteur, chez la poule, agissant sans incubation.

Substrat :

Plasma citraté humain déplaquettisé.

Mixture de thromboplastino-formation sans incubation :

0,2 cm³ plasma adsorbé humain dilué au 1/5°.

0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.

0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

0,1 cm³ réactif.

Courbe a : réactif = plasma adsorbé humain dilué au 1/4.

Courbe b : réactif = plasma adsorbé de poule dilué au 1/4.

Courbe c : réactif = tampon.

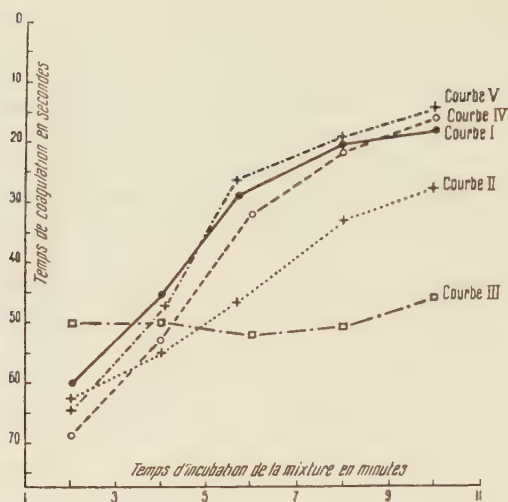


FIGURE XVII. — Mesure de la thromboplastine formée par une mixture humaine sur différents substrats.

Courbe 1 : substrat humain.

Courbe 2 : substrat = mélange de 9 parties de plasma humain déplaquettisé + 1 partie plasma de poule.

Courbe 3 : substrat = mélange de 6 parties de plasma humain déplaquettisé + 4 parties plasma de poule.

Courbe 4 : substrat = mélange de 6 parties de plasma humain déplaquettisé + 4 parties de tampon.

Courbe 5 : substrat = mélange de 9 parties de plasma humain déplaquettisé + 1 partie tampon.

Enfin, nous avons mesuré la quantité de thromboplastine développée par une « mixture humaine » en la testant sur un substrat composé d'un mélange en différentes proportions de plasma humain et de plasma de poule (fig. 17). Nous avons constaté que plus il y a de plasma de poule dans le mélange, moins nous mettons de thromboplastine en évidence.

Recherche d'un facteur sérique chez la poule inhibant la thromboplastino-formation humaine

Les techniques utilisées sont les mêmes que pour mettre en évidence un inhibiteur plasmatique.

La thromboplastino-formation d'un mélange à parties égales de sérum humain et de sérum de poule est identique à celle du sérum humain seul (fig. 18). L'incubation ne fait pas apparaître d'effet inhibiteur.

Si l'on introduit du sérum de poule dans une mixture humaine, la thromboplastino-formation n'est pas retardée (fig. 19).

En conclusion : l'absence de thromboplastino-formation du sérum de poule est liée au déficit mixte en facteurs prothromboplastiques B, Hageman et P.T.A., et non à un inhibiteur.

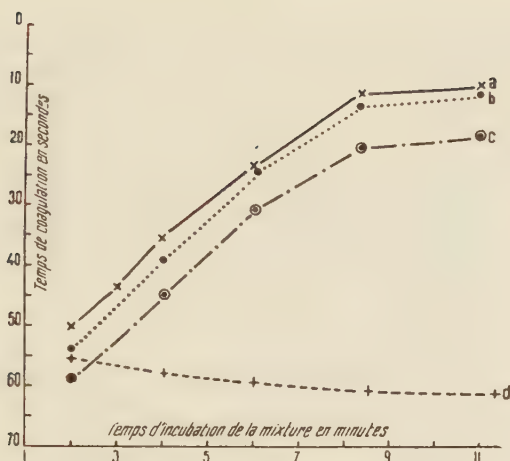


FIGURE XVIII. — Test de thromboplastino-formation : étude de l'activité prothromboplastique du sérum de poule et recherche d'un inhibiteur sérique agissant sur la thromboplastino-formation d'une mixture humaine.

Substrat :

Plasma citraté humain déplaquettisé.

Courbe a : 0,2 cm³ plasma adsorbé humain dilué au 1/5°.
0,2 cm³ sérum dilué au 1/10°.
0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

Courbe b : 0,2 cm³ plasma humain dilué au 1/5°.
0,1 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.
0,1 cm³ sérum de poule dilué au 1/10°.
0,2 cm³ suspension de céphaline au 1/25°.

Courbe c : 0,2 cm³ plasma adsorbé humain dilué au 1/5°.
0,1 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.
0,1 cm³ tampon.
0,2 cm³ suspension de céphaline diluée au 1/25°.

Courbe d : 0,2 cm³ plasma humain dilué au 1/5°.
0,2 cm³ sérum de poule dilué au 1/10°.
0,2 cm³ suspension de céphaline diluée au 1/25°.

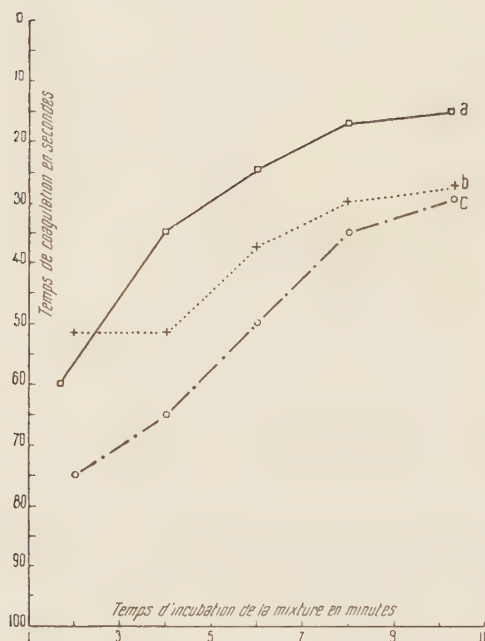


FIGURE XIX. — Test de thromboplastino-formation : recherche d'un inhibiteur sérique chez la poule.

Substrat :

Plasma citraté humain déplaquettisé.

Mixture de thromboplastino-formation :

0,2 cm³ plasma adsorbé humain dilué au 1/5°.

0,2 cm³ sérum humain dilué au 1/10°.

0,1 cm³ réactif.

0,2 cm³ suspension de céphaline diluée au 1/25°.

Réactifs :

Courbe a : rien (aucun réactif n'a été ajouté à la mixture).

Courbe b : 0,1 cm³ sérum de poule au 1/10°.

Courbe c : 0,1 cm³ tampon.

C. — L'activité thromboplastique globale du plasma de poule est inférieure à celle du plasma humain.

Temps de coagulation

Plasma humain	8'30"
Plasma de poule	18'

En résumé :

La formation endogène de thromboplastine chez la poule est inférieure à celle de l'homme. Ce fait est dû :

— à un déficit mixte en facteurs prothromboplastiques B, Hageman et P.T.A. ;

— à l'existence d'un inhibiteur anti-prothromboplastique humain présent dans le plasma de poule. L'effet antagoniste ne se retrouve pas dans le sérum ni dans le plasma chauffé à 64° pendant 3 minutes, ce qui laisse supposer que cet inhibiteur est étroitement lié au fibrinogène.

D. — Dosage des facteurs intervenant dans la deuxième phase de la thromboplastino-formation

1. Dosage du « complexe facteur VII » (tableau III).

Réactif : plasma de bœuf filtré Seitz 20 %	Thromboplastine humaine	Thromboplastine poule
Plasma humain 1/10	24 s	115 s
Plasma poule 1/10	65 s	85 s
Sérum humain 1/10	20 s	+ de 2 mn
Sérum poule 1/10	50 s	75 s

Technique : A 0,1 cm³ de plasma de bœuf filtré sur Seitz à 20 % d'amiante, on ajoute 0,1 cm³ de plasma à tester dilué au 1/10 (en tampon véronal acétate à pH 7,35), 0,1 cm³ thromboplastine et 0,1 cm³ CaCl₂.

TABLEAU III

Etude du complexe « facteur VII » dans le plasma et le sérum de poule

On ne peut doser la proconvertine et le facteur Stuart par la méthode d'Owren, en raison de l'hétéro-spécificité d'espèce qui existe entre thromboplastine tissulaire, réactifs et plasmas. En effet, Quick (11) a montré que le temps de Quick du plasma de poule était court avec de la thromboplastine de poule, mais très long avec de la thromboplastine de mammifère.

Le « temps de stypven » du plasma de poule est plus court que celui du plasma humain (8"/24"), alors que le « temps de stypven-céphaline » est identique à celui de l'homme (16"/16") (tableau IV).

Plasma humain	Plasma poule frais	Plasma poule "vieilli"	Thromboplastine humaine	Thromboplastine poule	Céphaline 1:1.000	Stypven 1:10000	CaCl ₂	Temps de recalcification
0,1	0,1		0,1	0,1			0,1 0,1	14" 15"
0,1	0,1					0,1 0,1	0,1 0,1	24" 8"
0,1	0,1				0,05 0,05	0,05 0,05	0,1 0,1	16" 16"

TABLEAU IV
Etude comparative des temps de Quick, Stypven, Stypven-céphaline du plasma de poule

Ces résultats prouvent que le plasma de poule possède autant de facteur Stuart que le plasma humain (et autant de proconvertine). On peut attribuer à sa plus grande richesse en lipides le temps de stypven très court du plasma de poule.

2. Etude de la proaccélélerine (tableau V).

Plasma vieilli humain	Plasma vieilli poule	Plasma humain 1/10	Plasma poule 1/10	Thromboplastine humaine	Thromboplastine poule	CaCl ₂ 1,11 g p. 400	Résultats
0,1	—	0,1	—	0,1	—	0,1	25 s
0,1	—	—	0,1	0,1	—	0,1	40 s
0,1	—	0,1	—	—	0,1	0,1	145 s
0,1	—	—	0,1	—	0,1	0,1	80 s
—	0,1	0,1	—	0,1	—	0,1	105 s
—	0,1	—	0,1	0,1	—	0,1	140 s
—	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1	+ de 2 mn
—	0,1	—	0,1	—	0,1	0,1	45 s

Technique : A 0,1 cm³ de plasma vieilli (dépourvu de proaccélélerine), on ajoute 0,1 cm³ de plasma à tester dilué au 1/10 (en tampon véronal acétate à pH 7,35), 0,1 cm³ de thromboplastine et 0,1 cm³ de CaCl₂.

TABLEAU V
Mesure de la proaccélélerine

La proaccélélerine, mesurée par la méthode d'Owren, ne peut être dosée exactement ; qu'on utilise un plasma réactif humain ou de poule, les résultats sont sensiblement identiques.

Puisque le temps de Quick et le « temps de stypven-céphaline » sont courts, on peut admettre que le taux de proaccélélerine chez la poule est au moins égal à celui du plasma humain.

Etude de la labilité de la proaccélélerine d'oiseau.

Le temps de Quick du plasma de poule s'allonge beaucoup plus rapidement que celui du plasma humain (tableau VI). Bien que la méthode d'Owren ne soit pas satisfaisante, dans ce cas elle nous a permis de mettre en évidence que la proaccélélerine disparaît très rapidement.

TABLEAU VI

Modifications du temps de Quick du plasma de poule au cours de la conservation

		Temps de Quick
0,1 cm ³ plasma poule vieilli	+ 0,1 cm ³ thromboplastine poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	83 s
0,1 cm ³ plasma poule frais	+ 0,1 cm ³ thromboplastine poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	14 s
0,05 cm ³ plasma vieilli poule + 0,05 cm ³ plasma poule frais	+ 0,1 cm ³ thromboplastine poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	14 s
0,1 cm ³ plasma poule vieilli + 0,1 cm ³ tampon.....	+ 0,1 cm ³ thromboplastine poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	+ de 90 s
0,1 cm ³ plasma poule vieilli + 0,1 cm ³ plasma poule frais dilué au 1/2	+ 0,1 cm ³ thromboplastine poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	24 s
0,1 cm ³ plasma poule vieilli + 0,1 cm ³ plasma poule frais dilué au 1/5	+ 0,1 cm ³ thromboplastine poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	34 s
0,1 cm ³ plasma poule vieilli + 0,1 cm ³ plasma poule frais dilué au 1/10	+ 0,1 cm ³ thromboplastine poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	39 s
0,1 cm ³ plasma humain vieilli + 0,1 cm ³ tampon...	+ 0,1 cm ³ thromboplastine humaine + 0,1 cm ³ CaCl ₂	+ de 90 s
0,1 cm ³ plasma humain vieilli + 0,1 cm ³ plasma humain frais dilué au 1/10	+ 0,1 cm ³ thromboplastine humaine + 0,1 cm ³ CaCl ₂	20 s

TABLEAU VII

Modifications du temps de Quick et de la proaccérine du plasma de poule au cours de la conservation

	Jour du prélèvement		24 heures après le prélèvement		48 heures après le prélèvement		72 heures après le prélèvement	
	Temps de Quick (1)	Pro-accérine (2)	Temps de Quick	Pro-accérine	Temps de Quick	Pro-accérine	Temps de Quick	Pro-accérine
Plasma humain conservé en verre à 37°.....	14 s	24 s	40 s	50 s	114 s	90 s	+ de 2 min	+ de 90 s
Plasma humain conservé en silicone à 0°.....	14 s	24 s	19 s	35 s	30 s	37 s	—	33 s
Plasma poule conservé en verre à 37°.....	15 s	40 s	85 s	89 s	88 s	+ de 100 s	—	100 s
Plasma poule conservé en silicone à 0°.....	14 s	40 s	23 s	53 s	52 s	110 s	—	103 s
Mélange composé de 1 cm ³ plasma humain + 0,4 cm ³ plasma poule, conservé en verre, à 37°.	20 s	33 s	58 s	53 s 50	78 s	67 s	—	75 s
Mélange composé de 1 cm ³ plasma humain + 0,4 cm ³ tampon, conservé en verre, à 37°....	17 s	32 s	37 s 50	51 s	67 s	49 s	—	73 s
Plasma humain frais	14 s	24 s	14 s	25 s	14 s	26 s	14 s	26 s
Plasma poule frais	14 s	40 s	14 s	39 s	16 s	45 s	16 s	45 s

(1) Les temps de Quick sont faits en présence de thromboplastine homologue, mais les mélanges sont testés en présence de thromboplastine humaine.

(2) Les dosages de proaccérine sont faits avec du plasma humain vieilli et de la thromboplastine humaine.

Lorsqu'on mesure, comparativement au plasma humain, le temps de Quick et le temps de proaccélélerine du plasma de poule conservé dans différentes conditions, on constate que :

— A 37°, le temps de Quick du plasma de poule s'allonge considérablement en 24 heures, tandis que le taux de proaccélélerine s'abaisse plus modérément (tableau VII). Ceci est dû soit à la dénaturation du fibrinogène, soit à la disparition partielle des éléments du « complexe facteur VII », et non à la prothrombine qui reste stable, comme nous avons pu le vérifier expérimentalement par ailleurs.

— A 0°, en verrerie siliconée, la proaccélélerine est stable pendant 10 heures environ ; en 24 heures, on note déjà un allongement du temps de Quick avec disparition partielle de la proaccélélerine ; en 72 heures, la quantité de proaccélélerine de poule détruite à 0° est beaucoup plus importante que celle de proaccélélerine humaine.

Le temps de Quick d'un mélange de plasmas de poule frais et conservé est identique à celui du plasma de poule frais lorsqu'il existe au moins 50 % de plasma de poule frais dans le mélange. Au-dessous de 50 % de plasma frais dans le mélange, le temps de Quick s'allonge beaucoup plus rapidement que dans les mélanges en mêmes proportions de plasmas humains frais et conservé (tableau VIII).

Par contre, la congélation, décongélation des plasmas d'homme et de poule modifient de façon similaire leur temps de Quick (tableau IX).

TABLEAU IX

Modifications du temps de Quick du plasma de poule
après congélation-décongélation

	Temps de Quick ---
0,1 cm ³ plasma humain frais + 0,1 cm ³ thromboplastine humaine + 0,1 cm ³ CaCl ₂	15"
0,1 cm ³ plasma humain décongelé + 0,1 cm ³ thromboplastine humaine + 0,1 cm ³ CaCl ₂	18"
0,1 cm ³ plasma de poule frais + 0,1 cm ³ thromboplastine de poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	15"
0,1 cm ³ plasma de poule décongelé + 0,1 cm ³ thromboplastine de poule + 0,1 cm ³ CaCl ₂	19"

Mise en évidence de la spécificité de la proaccélélerine de mammifère :

Nous avons essayé de corriger le temps de Quick du plasma de poule conservé en l'enrichissant en accélélerine (tableau X). Celle-ci est fournie par du sérum de bœuf oxalaté, adsorbé par le carbonate de baryum. Avec ce réactif, on élimine la spécificité d'espèce liée à la proconvertine ou au facteur Stuart. Le temps de Quick du plasma de poule enrichi en accélélerine reste long, alors que celui du plasma conservé humain est corrigé.

De la même façon, nous n'avons pas corrigé le temps de stypten du plasma de poule conservé 24 heures à 37° enrichi en accélélerine sous forme de sérum de bœuf adsorbé (tableau XI).

Plasma poule frais	Plasma poule « vieilli »	Plasma humain frais	Plasma humain « vieilli »	Sérum boeuf adsorbé oxalate	Tampon oxalaté	Thrombo- plastine poule	Thrombo- plastine humaine	CaCl ₂	Temps de recalcifi- cation
—	—	—	0,1	—	0,05	—	0,1	0,15 M/40	110 s
—	—	—	0,1	—	0,1	—	0,1	0,1 M/20	+ de 3 mn
—	—	—	0,1	0,05	—	—	0,1	0,15 M/40	17 s
—	—	—	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1 M/20	18 s
—	0,1	—	—	—	—	0,1	—	0,1 M/40	75 s
—	0,1	—	—	—	0,05	0,1	—	0,15 M/40	+ de 3 mn
—	0,1	—	—	—	0,05	—	0,1	0,15 M/40	+ de 3 mn
—	0,1	—	—	0,05	—	0,1	—	0,15 M/40	70 s
—	0,1	—	—	0,05	—	—	0,1	0,15 M/40	+ de 3 mn
—	0,1	—	—	0,1	—	0,1	—	0,1 M/20	79 s
0,1	—	—	—	—	—	0,1	—	0,1 M/40	14 s
—	—	0,1	—	—	—	—	0,1	0,1 M/40	14 s

TABLEAU X

Essai de correction du temps de Quick du plasma vieilli de poule
par adjonction de proaccélélerine de mammifère

Recherche d'un pouvoir anti-proaccélélerine humaine dans le plasma
de poule :

Nous avons mesuré la disparition de la proaccélélerine d'un plasma
humain en présence ou en l'absence de plasma de poule (tableau VII).
Nous n'avons pas mis en évidence de pouvoir anti-proaccélélerine humain
dans le plasma de poule.

Plasma poule frais	Plasma poule « vieilli »	Sérum bœuf oxalaté	Stypven 1/10 000	Céphaline 1.2 500	Thrombo-plastine poule	Thrombo-plastine humaine	Tampon oxalaté	CaCl ₂	Temps de recalcification
—	0,1	0,05	0,1	—	—	—	—	0,15	60 s
—	0,1	—	—	—	0,1	—	0,05	0,15	+ de 2 mn
—	0,1	0,05	—	—	0,1	—	—	0,15	70 s
—	0,1	0,05	—	—	—	0,1	—	0,15	+ de 3 mn
—	0,1	0,05	0,05	0,05	—	—	—	0,15	110 s
—	0,1	—	0,05	0,05	—	—	0,05	0,15	+ de 2 mn
0,1	—	—	—	—	0,1	—	—	0,1	15 s
0,1	—	—	0,1	—	—	—	—	0,1	8 s
0,1	—	—	0,05	0,05	—	—	—	0,1	15 s

TABLEAU XI

Etude des temps de Stypven et de Stypven-céphaline du plasma vieilli de poule enrichi en proaccélérateur de mammifère

Nous nous sommes heurté à de nombreuses difficultés en étudiant la thromboplastino-formation chez la poule. La principale est liée à l'hétéro-spécificité entre plasmas, sérums et thromboplastines d'oiseaux et de mammifères, et à l'interférence d'éventuels inhibiteurs que nous avons essayé de mettre en évidence.

L'étude de la coagulation chez la poule met en évidence :

- des déficits en certains facteurs de coagulation,
- des inhibiteurs d'espèce de la coagulation.

1° Absence de facteurs nécessaires à la thromboplastino-formation.

Chez la poule, en présence de réactifs de même espèce, la thromboplastino-formation est lente et, dans un même délai, la quantité de thromboplastine formée est très inférieure à celle réalisée chez l'homme.

Les différences portent, en effet, sur les tout premiers stades, puisque le temps de Quick et le temps de stypven sont courts.

Cette « anomalie » de la crase sanguine se retrouve « in vivo » ; on note de fréquents hématomes lors de ponctions veineuses directes, et nous avons constaté que certaines races avaient, plus que d'autres, tendance à saigner.

« In vitro », on note une teneur très faible en facteurs prothromboplastiques B, Hageman et P.T.A., alors que le taux de facteur prothromboplastique A est comparable à celui de l'homme. Nous pensons que les teneurs très faibles en facteurs prothromboplastiques B et « complexe C » sont réelles et non en rapport avec un inhibiteur d'espèce, puisque « in vitro » l'apport de plasma humain normal permet de corriger ces « déficits ».

Le facteur prothromboplastique A est plus labile chez la poule que chez l'homme. La thromboplastino-formation globale n'est pas négligeable si l'on prend soin de la mesurer sur un plasma de poule (substrat homologue). Cependant, en 10 minutes, la quantité de thromboplastine formée est bien inférieure à celle développée par une mixture humaine. D'autre part, la « prothrombinase » humaine, à l'inverse des thromboplastines tissulaires (incomplètes) et de la thrombine humaine, coagule assez rapidement le plasma de poule.

2° Inhibiteurs de la coagulation.

a) Inhibiteur du premier stade de la coagulation :

Le plasma de poule adsorbé par le sulfate de baryum inhibe la thromboplastino-formation humaine, alors que le plasma défibriné par chauffage ou le sérum sont sans action. On est tenté de penser que cet inhibiteur est étroitement lié au fibrinogène qui est lui-même inhibiteur

de la réaction thrombine-fibrinogène comme l'ont montré Burstein et Guinand (7). Cet inhibiteur d'espèce empêche de mesurer correctement la thromboplastino-formation globale et plasmatique de la poule.

Le « complexe facteur VII » et la proaccélélerine sont difficilement dosables. Le taux de facteur Stuart est au moins identique à celui de l'homme et la proconvertine et la proaccélélerine sont également aussi élevées que dans le plasma humain, puisque le temps de Quick du plasma de poule en présence de thromboplastine homologue est court.

La proaccélélerine est beaucoup plus labile chez cet animal et paraît spécifique de l'espèce.

b) Inhibiteur de la réaction thrombine-fibrinogène :

Comme l'ont montré Seegers et Smith (13), et Burstein (6), le plasma de poule inhibe le système thrombine-fibrinogène humain.

Nous devons ici nous demander si cet inhibiteur du dernier stade de la coagulation n'interférerait pas avec les dosages du « complexe facteur VII » et de la proaccélélerine, et avec les mesures de thromboplastino-formation en présence d'un substrat humain, puisque c'est toujours une action thrombique que l'on mesure en fin de compte.

En conclusion :

La coagulation chez la poule est plus lente que chez l'homme.

Les différences portent sur le premier stade de la thromboplastino-formation.

Si le taux de facteur prothromboplastique A est comparable à celui de l'homme, la teneur du plasma de poule en facteurs prothromboplastiques B et « complexe C » (Hageman et P.T.A.) est très faible comparée à celle du plasma humain.

Non seulement chez les oiseaux, la proconvertine ou le facteur Stuart (co-thromboplastine) paraît spécifique de l'espèce, mais encore la proaccélélerine, et celle-ci est beaucoup plus labile que chez les mammifères.

Il existe dans le plasma de poule un inhibiteur de la thromboplastino-formation humaine. Cet inhibiteur est détruit après chauffage du plasma à 64° pendant 3 minutes. Il n'existe pas dans le sérum, ce qui laisse supposer qu'il est étroitement lié au fibrinogène.

APPLICATION PRATIQUE DE CES NOTIONS NOUVELLES

Interchangeabilité de différents plasmas : Lorsqu'on désirera isoler un facteur, on s'adressera à celui des plasmas de mammifères qui possède ce facteur au taux le plus élevé ; mais cela ne sera possible qu'entre lapin, bœuf, mouton, où la coagulation est identique à celle de l'homme. Il faudra tenir compte, si l'on utilise le plasma de cheval, de son action anti-thrombique humaine. Quant au plasma d'oiseau, si on veut l'utiliser comme réactif, il faudra ne pas perdre de vue son activité antithrombique et compenser l'absence des facteurs nécessaires à la coagulation, sauf celui que l'on désire doser.

Réactif pour dosage des déficits en F.A.H. B : C'est ainsi que nous avons mis au point un réactif (utilisant le plasma de poule) permettant de doser le facteur prothromboplastique B sans faire appel à un plasma humain d'hémophile B. Nous avons préparé un réactif contenant tous les facteurs de coagulation, à l'exception du facteur prothromboplastique B. Nous utilisons du plasma de poule et du sérum

humain oxalaté adsorbé par 10 % de sulfate de baryum (adsorption faite à la température ordinaire pendant 10 minutes).

Le plasma de poule apporte le facteur prothromboplastique A, le fibrinogène, la prothrombine, le « complexe facteur VII », la proaccélélerine, mais il lui manque les facteurs prothromboplastiques B et « complexe C ». Le sérum adsorbé humain apporte le « complexe prothromboplastique C » ⁽¹⁾.

Nous avons cherché à nous mettre dans les conditions les plus favorables et les plus proches du réactif utilisé par Soulier et Larrieu dans leur méthode de dosage (voir le détail de la technique au chapitre « Méthodes »).

I. — Mélange réactif optimum

1. Critère d'un bon réactif :

Le meilleur réactif est celui qui a la plus grande « différentielle », c'est-à-dire celui qui, en présence de plasma humain normal, d'une part, ou de tampon, d'autre part, donne les plus grands écarts de temps de coagulation (le temps de coagulation avec le plasma normal ne devant pas excéder 5 à 6 minutes).

Nous avons constaté que :

— le meilleur réactif est constitué par le mélange à parties égales de plasma de poule et de sérum adsorbé humain oxalaté (tableau XII) ;

	TEMPS DE COAGULATION	
	Plasma témoin	Tampon
1 partie sérum pour 3 parties plasma	6'40"	10'30"
1 partie sérum pour 1 partie plasma	4'	10'30"
1 partie sérum pour 2 parties plasma	3'	6'

TABLEAU XII

Utilisation d'un mélange en différentes proportions de plasma de poule et sérum adsorbé humain pour doser le facteur anti-hémophilique B (calcul de la différentielle)

Technique : 0,1 réactif

0,1 plasma dilué au 1/20

0,1 CaCl₂ M/30

⁽¹⁾ Le sérum doit être oxalaté avant adsorption dans les proportions de 5 cm³ de sérum pour 1 cm³ de mélange de Wintrobe desséché.

— l'optimum calcique est fourni par une solution de chlorure de calcium à M/30 (tableau XIII) ;

	DOSAGE F.A.H. B	
	Plasma humain	Tampon
	Lecture coagulation difficile	
CaCl ₂ M/20	6'45"	10'45"
CaCl ₂ M/30	5'	15'30"
	Bons caillots	
CaCl ₂ M/40	7'45"	+ de 20'
	Lecture coagulation difficile	

TABLEAU XIII

Recherche de l'optimum calcique

Technique : 0,1 réactif

0,1 plasma dilué 1/20

0,1 CaCl₂ à différentes concentrations

— la céphaline n'est pas indispensable au dosage lorsqu'on utilise ce réactif artificiel (tableau XIV) ;

	DOSAGE F.A.H. B	
	Temps de coagulation	
	Sans céphaline	Avec céphaline
Plasma humain normal dilué au 1/20..	3'40"	3'30"
Plasma hémophile B dilué au 1/20....	9'	7'30"
Tampon	10'15"	9'

TABLEAU XIV

Dosage de facteur anti-hémophilique B avec ou sans céphaline

Technique : 0,1 réactif

0,1 plasma dilué au 1/20

0,1 CaCl₂ M/30

— les résultats sont identiques, que le plasma à tester soit riche ou pauvre en plaquettes (tableau XV) ;

	DOSAGE F.A.H. B
	Temps de coagulation
Plasma humain centrifugé 1.800 tours 7'	4'15"
Plasma humain centrifugé 4.000 tours 10' (2 fois) ..	4'
Plasma hémophile B centrifugé 1.800 tours 7'	16'30"
Plasma hémophile B centrifugé 4.000 tours 10' (2 fois)	18'
Tampon	+ de 18'

TABLEAU XV

Technique : 0,1 réactif
0,1 plasma dilué au 1/20
0,1 CaCl_2 M/30

— le réactif peut être congelé-décongelé, ce qui permet de préparer à l'avance ce mélange, mais on ne peut le décongeler qu'une seule fois avant son utilisation, car la proaccélérine de poule est extrêmement labile (tableau XVI) ;

	Plasma humain	Plasma hémophile B	Tampon
Mixture non congelée	5'10"	16'30"	19'
Mixture congelée-décongelée .	4'50"	18'	21'

TABLEAU XVI

Technique : 0,1 réactif
0,1 plasma dilué au 1/20
0,1 CaCl_2 M/30

— le réactif artificiel perd une partie de son activité après quelques semaines de conservation à — 20°. Pour cette raison, nous ne le préparons qu'en petites quantités.

2. Contenu du réactif en facteurs de coagulation.

	Plasma humain normal 1/20		Mixture 1/20 (réactif)	
	Temps coagulation	Pourcentage	Temps coagulation	Pourcentage
F.A.H. A	3'10"	100%	4'	70%
F.A.H. B	3'45"	100%	15'	— de 2%
F.A.H. Hageman	4'30"	100%	4'30"	100%

TABLEAU XVII

Dosage des facteurs anti-hémophiliques du réactif

Nous avons mesuré le taux de facteur prothromboplastique A, B, « complexe C » du réactif par la méthode de Soulier et Larrieu (tableau XVII). Il y a un grand excès des facteurs prothromboplastiques A et « complexe C » par rapport aux plasmas à tester qui sont dilués au 1/20 et une absence totale de facteur prothromboplastique B. D'autre part, nous avons dosé sur ce réactif des plasmas déficitaires en facteurs prothromboplastiques A, B ou Hageman (tableau XVIII).

	Réactif : plasma hémophile B déplaquettisation à froid en verrerie siliconée	Réactif artificiel préparé sans précaution spéciale
Plasma humain normal	3'	3'40"
Plasma hémophile A ⁽¹⁾	3'10"	3'55"
Plasma hémophile B	10'30"	9'
Plasma de poule	11'15"	9'40"
Plasma d'Hageman-trait ⁽¹⁾ ..	4'10"	4'40"
Tampon	12'	10'15"

TABLEAU XVIII

Dosage du facteur anti-hémophile B de différents plasmas

⁽¹⁾ Plasma décongelé.

Les résultats furent comparables à ceux obtenus avec un plasma d'hémophile B réactif. Nous n'avons pas mesuré la proaccéléline, le « complexe facteur VII » et la prothrombine par la méthode d'Owren-Koller en raison de la spécificité d'espèce entre plasmas d'oiseaux et thromboplastines de mammifères, mais nous avons testé le facteur prothromboplastique B de différents plasmas déficitaires en facteurs autres que le facteur prothromboplastique B, simultanément sur le réactif artificiel et sur le réactif plasma d'hémophile (tableau XIX). Les résultats furent comparables et permettent d'affirmer que notre réactif n'est pas influencé par les variations en proaccéléline, « complexe facteur VII », prothrombine.

	Réactif : plasma hémophile B	Réactif artificiel
Plasma humain normal	3'	4'40"
Plasma « vieilli » (plasma désaccéléliné) ..	3'	4'45"
Plasma de bœuf filtré Scitz à 20% (déficit en facteur anti-hémophilique B)	6'45"	7'15"
Plasma humain adsorbé SO ₄ Ba (déficit en facteur anti-hémophilique B)	10'15"	9'40"
Plasma dicoumarolé (déficit modéré en fac- teur anti-hémophilique B)	4'10"	6'
Plasma d'hypoconvertinémie congénitale....	3'10"	4'40"
Tampon	12'	10'15"

TABLEAU XIX

Dosage de facteur anti-hémophilique B de différents plasmas, en utilisant comme réactif soit le plasma d'hémophile B, soit le réactif artificiel

Nous avons montré que la proaccéléline est très labile et disparaît en quelques heures du plasma conservé à la température ordinaire. Il est donc théoriquement préférable d'utiliser du sérum de bœuf adsorbé dans la composition du réactif pour qu'il existe toujours un excès de proaccéléline ; mais nous avons obtenu des résultats assez peu constants. C'est la raison pour laquelle nous utilisons du sérum humain.

Pour perdre le moins possible de proaccéléline, il faut centrifuger immédiatement après le prélèvement le sang de poule à haute vitesse pendant 10 minutes ; le plasma doit être utilisé sans délai, ou bien conservé en verrerie siliconée à 0° quelques heures, ou mieux, être congelé.

Technique : A 0,1 cm³ de plasma à tester dilué au 1/20 en tampon à pH 7,35, on ajoute 0,1 cm³ de réactif artificiel composé d'un mélange à parties égales de plasma de poule et de sérum humain, et 0,1 cm³ de CaCl₂ M/30.

3. Courbe de référence.

Pour convertir les temps de coagulation en taux, nous avons établi une courbe d'étalonnage en diluant un plasma normal dans différentes

proportions. Cette courbe permet d'apprécier en pourcentage de la normale la teneur exacte du facteur prothromboplastique B (cf. courbe).

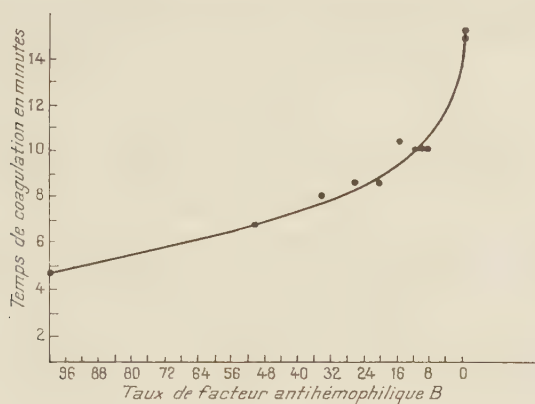


FIGURE XX. — Courbe de référence (transformation des temps de recalcification en taux de facteur antihémostasique B).

N.B. — Nous pensons mettre au point un réactif permettant de doser le « complexe C » en utilisant un mélange de plasma de poule et de facteur prothromboplastique B, préparé à partir de sérum humain adsorbé, puis élué secondairement.

R É S U M É

Le mécanisme de la coagulation et l'étude des facteurs qui y participent ont fait l'objet de très nombreux travaux depuis une quinzaine d'années.

La formation endogène de thromboplastine constitue le premier stade de la coagulation. Elle représente 90 % de la durée totale de la coagulation chez l'homme. C'est le temps principal aussi bien par le nombre de facteurs qui y participent que par les troubles importants que l'on constate lorsqu'un seul de ces facteurs fait défaut chez l'homme.

Cette première phase de la coagulation peut être actuellement étudiée en détails grâce aux techniques modernes récemment mises au point (test de thromboplastino-formation de Biggs et Douglas, dosages spécifiques des facteurs prothromboplastiques par la méthode de Soulier et Larrieu, dosage des éléments du complexe prothrombique par la méthode d'Owren, etc...) beaucoup plus précises et spécifiques que celles antérieurement utilisées.

La thromboplastino-formation humaine a fait l'objet de nombreux travaux. Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier comparativement la thromboplastino-formation plasmatique et sérique dans différentes espèces animales.

I. — CHEZ LES MAMMIFERES

(par rapport à l'homme)

LE LAPIN possède 3 à 4 fois plus de facteur prothromboplastique A, un taux identique de facteur prothromboplastique B, environ deux fois moins de facteur Hageman, 2 à 3 fois plus de P.T.A., une teneur plus élevée en facteur Stuart et 40 fois plus de proaccéléline.

LE BŒUF contient 15 à 20 fois plus de facteur prothromboplastique A, un taux très légèrement inférieur de facteur prothromboplastique B, 4 fois moins de facteur Hageman, au moins 5 fois plus de P.T.A., un taux sensiblement identique de facteur Stuart, 4 fois plus de proaccéléline.

LE MOUTON : l'étude des facteurs prothromboplastiques est difficile. L'activité thromboplastique du sang de cet animal interfère avec les résultats des dosages de facteurs prothromboplastiques et nous n'avons pas déterminé avec exactitude la teneur en ces facteurs. Cependant, nous avons trouvé que la teneur en facteur prothromboplastique A était plus élevée que chez l'homme ; le taux de proaccéléline est environ 20 fois plus élevé.

LE CHEVAL : le plasma de cheval est riche en facteur prothromboplastique A et B, alors que certains auteurs affirmaient que cet animal était dépourvu de ce facteur ; mais nous avons montré que ce plasma était inhibiteur antithromboplastique A et B humain, effet qui ne semble pas lié à l'inhibiteur antithrombique. Le taux de facteur Hageman est identique à celui de l'homme alors que le taux de P.T.A. semble très faible. Le facteur Stuart semble moins élevé que dans le plasma humain et le taux de proaccéléline est 4 fois plus grand.

Nous pensons que la fibrino-formation du sang de cheval est différente de celle de l'homme, et nous la rendons responsable en partie de la coagulation lente chez cet animal.

II. — CHEZ LA POULE

Il est bien connu que le sang d'oiseau coagule dans un délai plus long que le sang humain. Plusieurs auteurs ont étudié le pouvoir antithrombique du plasma de poule et d'oie, mais la thromboplastinoformation n'a jamais fait l'objet d'aucun travail.

Cette phase de la coagulation est très différente de celle des mammifères. Nous avons montré qu'il existait :

— un taux identique de facteur prothromboplastique A, mais ce facteur est beaucoup plus labile dans le plasma de poule que dans le plasma humain ;

— une absence subtotale des facteurs prothromboplastiques B, P.T.A. et de Hageman activé. Leur intervention n'est donc pas nécessaire à la thromboplastinoformation intrinsèque chez cet animal ;

— un taux de facteur Stuart, de proconvertine et de proaccélélerine sensiblement identique à celui de l'homme ; cependant, la proaccélélerine est beaucoup plus labile chez cet animal que chez les mammifères et spécifique de l'espèce.

Nous avons comparé l'activité des thromboplastines de diverses espèces sur des plasmas homologues et hétérologues. Les co-thromboplastines plasmatiques d'oiseaux et de mammifères ne sont pas interchangeables.

Applications pratiques de cette étude

L'étude de la thromboplastinoformation chez la poule nous a permis de mettre au point un réactif (utilisant le plasma de poule) servant à doser le facteur prothromboplastique B chez l'homme et dans les diverses espèces, ce qui dispense de faire appel à un plasma d'hérophile B.

	F.P.A.	F.P.B.	F. P. C.		Facteur Stuart	Proaccélerine
			Facteur Hageman activé	P.T.A.		
Plasma lapin...	3 à 4 fois plus	identique	2 fois moins environ	2 à 3 fois plus	plus élevé que chez l'homme	40 fois plus au moins
Plasma boeuf...	15 à 20 f. plus	très légèrement inférieur	4 fois moins	5 fois plus	sensiblement identique	4 fois plus
Mouton	supérieur	supérieur	supérieur			20 fois plus (environ)
Cheval	sensiblement identique	sensiblement identique	identique	absence ou traces	inférieur	5 fois plus (environ)
Poule	identique	absence ou traces	absence ou traces	très bas	identique	identique

TABLEAU XXI

Tableau comparatif des taux de facteurs prothromboplastiques de différentes espèces animales vis-à-vis du plasma humain

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BELL W.N., ALTON H.B. — A brain extract as a substitute for platelet suspensions in the thromboplastin generation test. « Nature », 1954, 174, 4436, 880.
- (2) BELL W.N., ARCHER R.K., TOMLIN S.C. — Coagulation mechanism of the horse. « Nature », 1955, 175, 596.
- (3) BIDWELL E. — The purification of bovine antihæmophilic globulin. « Brit. J. Haemat. », 1955, 1, 1.
- (4) BIDWELL E. — The purification of antihæmophilic globulin from animal plasma. « Brit. J. Haemat. », 1955, 1, 4.
- (5) BIGGS R.M., DOUGLAS A.S. — The thromboplastin generation test. « J. Clin. Path. », 1953, 6, 1, 23.
- (6) BURSTEIN M. — Effet antagoniste du plasma d'oiseau vis-à-vis de la thrombine de mammifères. « C.R. Acad. Sci. », 1950, 231, 592.
- (7) BURSTEIN M., GUINAND A. — Sur le pouvoir antithrombinique du fibrinogène de poule. « Le Sang », 1956, 27, 9, 940.
- (7^{bis}) BURSTEIN M., SOULIER J.P. — La préparation d'un plasma exempt de facteur thromboplastique plaquettaire. « Rev. Hémat. », 1957, 12, 3, 341.
- (8) MACFARLANE R.G., BIGGS R.M., BIDWELL E. — Bovine antihæmophilic globulin in the treatment of hæmophilia. « Lancet », 1954, 1, 1316.
- (8^{bis}) MARGOLIS J. — Initiation of blood coagulation by glass and related surfaces. « J. of Physiol. », 1957, 137, 1, 95-109.
- (9) MURPHY R.C., SEEGER W.H. — Concentration of prothrombin and Ac-globulin in various species. « Amer. J. Physiol. », 1948, 154, 134.
- (10) OWREN F.A. — La proconvertine. « Rev. Hémat. », 1952, 7, 2, 147.
- (11) QUICK A.J. — Qualitative differences in the prothrombin, thromboplastin and thrombin in different species. « J. Biol. Chem. », 1938, 99.
- (12) QUICK A.J., STEFANINI M. — The concentration of the labile factor of the prothrombin complex in human, dog and rabbit blood. Its significance in the determination of prothrombin activity. « J. Lab. Clin. Med. », 1948, 33, 819.
- (13) SEEGER W.H., SMITH H.P. — Factors with influence activity of purified thrombin. « Amer. J. Physiol. », 1942, 137, 348.
- (14) SJOLIN K.E. — Lack of christmas factor in horse plasma. « Nature », 1956, 178, 4525, 153.
- (15) SJOLIN K.E. — Coagulation defect in horse plasma. « Proc. Soc. Exp. Biol. Med. », 1957, 94, 4, 818.
- (16) SOULIER J.P., LARRIEU M.J. — Nouvelle méthode de diagnostic de l'hémophilie. Dosage des facteurs anti-hémophiliques A et B. « Sang », 1953, 24, 205.
- (17) SOULIER J.P., LARRIEU M.J. — Etude analytique des temps de Quick allongés. Dosages de prothrombine, de proconvertine et de proaccéléline. « Le Sang », 1952, 23, 7, 549.
- (18) SOULIER J.P., LARRIEU M.J. — Measurement of thromboplastic factors and profactors in plasma. I. Deficits in thromboplastin. « J. Lab. Clin. Med. », 1953, 41, 849.
- (19) SPAET T.H., GARNER E.S. — Studies on the storage lability of human antihemophilic factor. « J. Lab. Clin. Med. », 1955, 46, 1.
- (20) STORMORKEN H. — Species differences of clotting factors in ox, dog, horse and man. Proaccelerin and accelerin. « Acta Physiol. Scand. », 1957, 39, 2/3, 121.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

**PROGRÈS RÉCENTS DANS LE FRACTIONNEMENT
DES PROTEÏNES PLASMATIQUES ET SÉRÍQUES**

Vu et approuvé :

Paris, le 24 Janvier 1958

**le Doyen de la Faculté des Sciences,
J. PERES**

VU

et Permis d'imprimer :

**Le Recteur de l'Académie
de Paris,
Jean SARRAILH**

